FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1965

THÈSE

N° 7117

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, André LALANDE

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 28 Juillet 1933, à Marseille (Bouches-du-Rhône)

Présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1965

Etude des anticorps sériques contre la gliadine et les protéines du lait de vache au cours de la maladie cœliaque et de l'intolérance au lait chez l'enfant

Président : M. LAMY, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1965

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1965 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques, André LALANDE

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 28 Juillet 1933, à Marseille (Bouches-du-Rhône)

Présentée et soutenue publiquement le 29 juin 1965

Etude des anticorps sériques contre la gliadine et les protéines du lait de vache au cours de la maladie cœliaque et de l'intolérance au lait chez l'enfant

Président : M. LAMY, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1965

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (Mlle J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

Doyen : Georges BROUET

1er assesseur : Daniel BARGETON — 2e assesseur : Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	Delmas (A.)
—	Huard (P.)
Anatomie et cytologie path.	Delarue (J.)
Anesthésiologie	Vourc'h (G.)
Bactériologie et virologie.	Tournier (P.)
Biochimie médicale	Jayle (M.-F.)
—	Polonovski (J.)
—	Desgrez (P.)
Biologie appl. à l'Education physique et aux Sports.	Malmejac (J.)
Biologie médicale	Fauvert (R.)
Biophysique médicale	Bugnard (L.)
—	Dognon (A.)
—	Djourno (A.)
Cancérologie expérimentale	Mathé (G.)
Chimie pathologique	Schapira (G.)
Génétique fondamentale	Lejeune (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	Coury (Ch.)
Histologie et Embryologie	Tuchmann-Duplessis (H.)
— —	Coujard (R.)
Hygiène et méd. préven.	Boyer (J.)
Médecine du Travail	Desoille (H.)
Médecine légale, Droit méd. et déontologie	Derobert (L.)
Microbiologie (Bactériol. et virologie)	Fasquelle (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	Laurence (G.)
—	Kuss (R.)
—	Verne (J.-M.)
Pathologie exotique	Brumpt (L.-C.)
Pathologie expér. et comp.	Merklen (F.-P.)
Pathologie médicale	Laroche (Cl.)
—	Bricaire (H.)
—	Péquignot (H.)
Pathologie respiratoire	Turiaf (J.)
Pathologie et thér. génér.	Maurice (P.)
Pharmacologie	Boissier (J.-R.)
—	Lechat (P.)
Physiologie	Bargeton (D.)
—	Parrot (J.)
Physiologie et path. obst.	Lepage (F.)
Radiologie médicale	Desgrez (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale.	N...
Thérapeutique	Lamotte (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs a titre personnel :

Anatomie	Cabrol (Ch.)
Anatomie anthropologique.	Olivier (G.)
Anatomie pathologique	Nezelof (Ch.)
Bactériologie	Barbier (P.)
Biochimie médicale	Dreyfus (J.-Cl.)
Biologie médicale	Bourlière (F.)
Parasitologie	Larivière (M.)
Pathologie expérimentale	Loeper (J.)
Physiologie	Dejours (P.)
	Scherrer (J.)
Physique médicale	Kellershohn (L.)
	Gougerot (L.)
	Roucayrol (J.-Cl.)
	Tubiana (M.)
Radiologie médicale	Fischgold (H.)

UNIV. LEIDEN BIBL.

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Cliniques :

— carcinologique ..... Denoix (P.)
— carcinologique chirurg. (Necker) ..... Redon (H.)
— cardiol. (Broussais) .. Soulié (P.)
— cardiol. (Boucicaut) .. Lenègre (J.)
— chirurgicales : *Beaujon :* Lortat-Jacob (J.-L.) ; Baumann (J.) - *Cochin :* Leger (L.) - *Hôtel-Dieu :* Patel (J.) - *Saint-Antoine :* Gosset - *Salpêtrière :* Sicard (A.) - *Tenon :* Olivier (Cl.).
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Cochin) .. Merle d'Aubigné (R.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Foch) .... Padovani (P.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Beaujon) .. Cauchoix (J.)
— chirur. infant. et orthop. (Enfants-Malades) .... Fèvre (M.)
— chirurgie cardio-vascul. (Broussais) ..... Dubost (Ch.)
— chir. thorac. (Laennec). Mathey (J.)
— dermatol. (Saint-Louis). Duperrat (F.)
— endocrinolog. (Pitié) .. Decourt (J.)
— Génét. médic. (Enfants-Malades) ..... Lamy (M.)
— chir. et gynéc. (Broca) Huguier (J.)
— maladies cutanées et syphilit. (Saint-Louis) . Degos (R.)
— maladies des enfants (Enfants-Malades) .... Turpin (R.)
— malad. infect. (Claude-Bernard) ..... Mollaret (P.)
— malad. mentales et de l'encéph. (Sainte-Anne) Delay (J.)
— maladies du sang (Broussais) ..... Bernard (J.)
— malad. du système nerveux (Salpêtrière) .... Castaigne (P.)
— médicales : *Bicêtre :* Deparis (M.) - *Broussais :* Milliez (P.) - *Cochin :* N... - *Hôtel-Dieu :* Bariéty (M.) - *Pitié :* Dreyfus (G.) - *Saint-Antoine :* Conte (M.) ; Kourilsky (R.) ; Boudin (G.).
— d'hydrologie et de climatologie (Bichat) ... Debray (Ch.)
— médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades) ..... Marie (J.)

MM.

— médicale propédeutique (Broussais) ..... Justin-Besançon (L.)
— médico-sociale du diabète sucré et des maladies métabol. (Hôtel-Dieu) ..... Derot (M.)
— néphrologique (Necker) Hamburger (J.)
— neuro-chirurgie (Pitié) . David (M.)
— neurolog. (Salpêtrière) . Garcin (R.)
— obstétricales : *Baudelocque :* Lacomme (M.) - *Saint-Antoine :* Merger (R.).
— obstétricale et gynécol. (Port-Royal) ..... Varangot (J.)
— ophtalmol. (Hôtel-Dieu) Offret (G.)
— ophtalmolog. (Cochin). Bregeat (P.)
— oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) ..... Aubry (M.)
— pédiatrie (Trousseau) . Mozziconacci (P.)
— pédiatrie et de puéricul. (Saint-Vincent-de-Paul) Thieffry (S.)
— pneumo-phtisiologie (Laennec) ..... Brouet (G.)
— neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) ..... Michaux (L.)
— rhumatologie médicale et sociale (Cochin) .. Coste (F.)
— rhumatol. (Lariboisière) Sèze (S. de)
— stomatol. (Salpêtrière) . Dechaume (M.)
— thérap. chirur. (Vaugirard) ..... Roux (M.)
— thérapeutique médicale (Saint-Antoine) ..... Lemaire (A.)
— toxicologique (Widal) . Gaultier (M.)
— traumat. et orthopédique (R. Poincaré) ..... Judet (R.)
— urologique (Cochin) .. Aboulker (P.)
— urologique (Necker) .. Couvelaire (R.)
Hygiène et clinique de la 1re enfance (Trousseau) Laplane (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin) ..... Domart (A.)
— (Lariboisière) ..... Bouvrain (Y.)
— (Pitié) ..... Rambert (P.)
— (Rothschild) ..... Wolfromm (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais) . Poilleux (F.)

b) Professeurs a titre personnel :

Hématologie ..... André (R.)
Bousser (J.)
Hydrologie et climatologie Giberton (A.)
Maladies infectieuses ... Bastin (R.)
Médecine : Azerad (E.) ; Bour (H.) ; Caroli (J.) ; Dreyfus (B.) ; Grossiord (A.) ; Lambling (A.) ; Launay (Cl.) ; Payet (M.) ; Perrault (M.) ; Siguier (F.) ; Worms (R.).
Néphrologie ..... Richet (G.)

Neuro-chirurgie ..... Le Beau (J.)
Neurologie ..... Lhermitte (F.)
Neuro-psychiatrie ..... Pichot (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie . Maduro (R.)
Pédiatrie ..... Polonovski (Cl.)
Royer (P.)
Pneumo-Phtisiologie ..... Kreis (B.)
Meyer (A.)
Rhumatologie ..... Delbarre (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	Gouygou (Ch.)
Bactériologie	Christol (D.)
Biochimie médicale	Cartier (P.)
	Gonnard (P.)
	Nordmann (J.)
Biologie médicale	Hartmann (L.)
Chirurgie	Cerbonnet (G.)
Hématologie	Bilski-Pasquier (G.)
Maladies infectieuses	Dupont (V.)
Neuro-psychiatrie	Tardieu (G.)
Pédiatrie	Rossier (A.)
Physique médicale	Coursaget (J.)
	Gremy (F.)
Physiologie	Girard (Fr.)
Stomatologie	Chaput (Mme A.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie : M. Haudduroy (P.), *pr. s. ch.*

Pathologie chirurgicale : M. Rudler (J.), *pr. s. ch.*

IV. — PROFESSEURS ASSOCIÉS

Hormonologie ..... Moricard (R.)

Statistique médicale et épidémiologique ..... Schwartz (D.)

Secrétaire général de la Faculté : M. Lena (J.).
Conseiller administratif : Mlle Chaintreuil (G.).
Conservateur en Chef de la Bibliothèque, Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine : M. le Docteur Hahn (A.).

Conservateurs : Mlles Dumaitre (P.), Laurent (H.), Le Noir (G.).
Bibliothécaires : Mmes Contet (J.), Forget (F.), Mlles Durosoy (M.-F.), Roberge (D.), Docteur Schiller (J.).

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME ET A MES ENFANTS

Qui éclairent ma vie d'un bonheur profond.

En témoignage de ma tendresse.

A MES PARENTS

Avec l'expression de mon affection et de ma reconnaissance.

A MES BEAUX-PARENTS

En gage d'affectueux respect.

A Monsieur le Professeur Maurice LAMY

Professeur de Génétique Médicale
à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin de l'Hôpital des Enfants-Malades
Commandeur de la Légion d'Honneur

Qui nous a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de cette thèse.
Hommage respectueux.

A Monsieur le Professeur B.-N. HALPERN

Membre de l'Institut
Professeur au Collège de France
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui nous a si aimablement accueilli en son laboratoire et aidé de ses précieux conseils.

En témoignage de reconnaissance pour sa compréhension.

A Monsieur le Professeur Agrégé Jean FRÉZAL

Qui nous a fourni le sujet de cette thèse, les éléments nécessaires à son élaboration et nous a grandement aidé à sa rédaction.

En témoignage de profonde reconnaissance et de respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur Agrégé Jean REY

Dont l'aide et les encouragements nous ont été très précieux.

En témoignage de sincère amitié.

A Monsieur le Docteur N.-T. KY

Qui nous a très gentiment initié à la délicate technique de l'hémagglutination passive.

Avec nos très sincères remerciements.

A MES MAITRES D'INTERNAT

Monsieur le Professeur Agrégé M. AUSSANNAIRE

Monsieur le Professeur M. LAMY

Monsieur le Professeur Agrégé J.-B. BOUVIER

Monsieur le Docteur J. NOUAILLE

Monsieur le Professeur M. DEPARIS

Monsieur le Professeur Agrégé P. MOZZICONACCI

Monsieur le Professeur Agrégé R. MALLET

A Mademoiselle M. DAVAL

Infirmière si dévouée, dont le travail patient a grandement aidé à la réalisation de ce travail.

A Mademoiselle A. BRANELLEC

Qui nous a aidé dans les techniques de laboratoire avec tellement de gentillesse et de bonne humeur.

INTRODUCTION

Le développement d'anticorps, dans le sang circulant chez l'homme, vis-à-vis de protéines alimentaires a été démontré depuis longtemps. D'autre part, on a décrit des syndromes aux limites précises qui sont déclenchés par certains aliments. Il en est ainsi de la maladie cœliaque (qui résulte d'une intolérance au gluten du blé), ou encore de l'intolérance au lait de vache.

Le but de ce travail est d'étudier la présence éventuelle d'anticorps contre les protéines alimentaires dans le sérum des malades souffrant de telles intolérances :

— anticorps contre la gliadine dans la maladie cœliaque ;

— anticorps contre les protéines du lait dans les intolérances au lait de vache.

Cette recherche a été effectuée par comparaison avec deux groupes d'enfants :

1° Des témoins ne souffrant d'aucun trouble digestif.

2° Des enfants convalescents de gastro-entérite aiguë, ceci pour voir si une altération de la muqueuse, même transitoire, ne favoriserait pas le développement d'anticorps vis-à-vis d'allergènes alimentaires.

L'étude a porté sur les malades qui ont été soignés et qui sont régulièrement revus dans le Service du Professeur Maurice Lamy, à l'Hôpital des Enfants-Malades *. Nous tenons à leur exprimer ici toute notre reconnaissance.

C'est ainsi que les prélèvements ont été effectués sur des malades dont le diagnostic est porté avec certitude, chez qui les recherches immunologiques ont pu être faites parallèlement aux explorations biologiques, radiologiques et histologiques.

(*) Clinique de Génétique Médicale de la Faculté de Paris, Unité de Recherches Métaboliques, 149, rue de Sèvres, Paris-15e (Professeur agrégé Jean Frézal, Professeur agrégé Jean Rey).

D'autre part, plusieurs malades ont été suivis, dans des conditions identiques, à plusieurs stades de leur maladie.

Les recherches d'anticorps sériques ont été faites par la technique de l'hémagglutination passive *in vitro* à la benzidine, technique utilisée et mise au point par le Professeur B.-N. HALPERN et ses collaborateurs, qui ont eu l'extrême gentillesse de nous accueillir dans leur laboratoire du Centre de Recherches Allergiques et Immunologiques, à l'Hôpital Broussais, Paris.

CHAPITRE I

LES ETUDES SUR LES ANTICORPS VIS-A-VIS DES ALLERGENES ALIMENTAIRES

I. — PASSAGE DES ANTIGENES ALIMENTAIRES A TRAVERS LA MUQUEUSE INTESTINALE ET FORMATION DES ANTICORPS

Les protéines des aliments sont normalement absorbées après avoir été dégradées en acides aminés et oligopeptides par les enzymes digestives. Seule une faible proportion traverse la muqueuse sous une forme entière ou partiellement dégradée. Ce phénomène, qui n'a aucune importance métabolique, est en revanche suffisant pour susciter la production d'anticorps aux antigènes ingérés, du moins dans certaines conditions.

A) Démonstration du passage des protéines non dégradées à travers la paroi intestinale

- *Chez l'animal :*

  Il peut être prouvé de différentes façons :
  — apparition de précipitines spécifiques dans le sérum du lapin après absorption prolongée *per os* de blanc d'œuf ;
  — mise en évidence de l'antigène dans le sang circulant par l'anti-sérum spécifique quelques heures après l'absorption par voie orale ;
  — déclenchement d'un choc anaphylactique par injection intraveineuse d'une protéine sensibilisante après deux ou trois semaines de son administration *per os ;*
  — ou bien à l'inverse, après sensibilisation par injection intramusculaire, déclenchement du choc par administration orale de la même protéine [19].

• *Dans l'espèce humaine et en particulier chez le nourrisson :*

On a pu démontrer la présence des protéines alimentaires dans le sérum par des réactions de précipitation avec l'anticorps spécifique.

Ce phénomène s'observe pour des aliments inhabituels aux nourrissons (ovalbumine, amandes, sérum de mouton), mais également pour les protéines du lait de vache. Ceci a été démontré par HALPERN et ses coll. : une heure après l'ingestion de lait de vache bouilli, on retrouve de la caséine non dégradée dans le sérum des nourrissons. Sur les 58 nourrissons ainsi étudiés, la présence de la caséine a été mise en évidence chez 45, soit environ 77 %.

« Autrement dit, chez le nourrisson humain bien portant, le passage de la protéine du lait à travers la muqueuse digestive saine est un phénomène constant et quasi normal. [18] »

Secondairement peuvent apparaître dans le sang des anticorps spécifiques décelables par les réactions de précipitation, de fixation de complément, d'hémagglutination ou par les tests d'hypersensibilité cutanée.

Par la technique d'hémagglutination passive chez des nourrissons de six semaines à deux ans, des anticorps aux protéines du lait sont retrouvés à des taux d'autant plus élevés que l'introduction de lait de vache dans l'alimentation a été plus précoce (GUNTHER et coll. [17].

Ce qui est vrai pour les protéines du lait a été démontré également pour les protéines d'origine végétale, d'amandes par exemple, ou surtout pour la gliadine, en utilisant des sérums de lapins hyperimmunisés ou par anaphylaxie cutanée passive (HEINER et coll. [24]).

Il a été trouvé que les nouveau-nés absorbaient la gliadine dix fois plus vite que les autres sujets, enfants et adultes. Cependant, chez les enfants atteints d'un syndrome cœliaque, il fallait des quantités de gliadine bien supérieures (5 à 10 fois plus) aux quantités nécessaires chez les enfants normaux, pour faire apparaître la réaction.

Comme d'une manière générale on ne retrouve d'anticorps à la gliadine que dans le sérum des malades cœliaques, on peut évoquer la possibilité, dans ce cas, d'une neutralisation de l'antigène par les anticorps circulants (HEINER).

B) La synthèse des anticorps spécifiques et les syndromes d'intolérance

Nous venons de le voir, la présence d'antigène dans le sérum peut entraîner la production d'anticorps. Mais alors que le passage des protéines alimentaires est constant chez tous les sujets, le pourcentage d'allergies cliniques demeure faible et, semble-t-il, les anticorps spécifiques, tout au moins ceux décelables par les moyens dont nous disposons, ne sont retrouvés que chez certains.

Or les doses d'antigènes ingérées puis absorbées sont de beaucoup supérieures à ce qui est nécessaire pour déclencher le phénomène. Diverses hypothèses ont été avancées pour rendre compte de cette discordance. Peut-être peut-on invoquer le passage dans le sérum, en même temps que la molécule sensibilisante, de fractions plus petites résultant de la digestion peptique et dont la présence en tant qu'haptène peut bloquer la réaction antigène-anticorps.

Sans doute interviennent alors des facteurs propres à chaque individu :

— immaturité des phénomènes de blocage, par exemple chez le nourrisson vis-à-vis des antigènes contenus dans le lait puisqu'il semble bien, comme le signale GUNTHER [17], que la fréquence des anticorps aux protéines du lait soit particulièrement élevée au cours de la première enfance. Elle diminuerait ensuite chez les enfants plus grands ;

— on a insisté également sur la difficulté d'analyse du rôle exact joué par un aliment, celui-ci pouvant être antigénique uniquement par une de ses fractions libérées au cours de la digestion ;

— les protéines alimentaires dégradées ou non, comme tous les types d'aliments, se modifient au contact d'enzymes variés tout au long du tractus digestif, surtout dans le grêle, et peuvent peut-être acquérir des propriétés antigéniques, surtout si la muqueuse est pathologique (SAUTIER et coll. rapporté par BERNARD [4])* ;

— enfin la réaction d'hémagglutination passive peut mettre en évidence simultanément deux types différents d'anticorps. On peut évoquer un facteur d'origine génétique qui oriente la synthèse des anticorps soit vers le type S 7 gamma 1 sensibilisant et ne fixant pas le complément, soit vers le type S 7 gamma 2 non sensibilisant et fixant le complément (HALPERN).

(*) *Premier Congrès International de l'Allergie alimentaire et digestive*, Vichy, juin 1963.

C) Le rôle de l'altération de la muqueuse digestive sur le passage des protéines et sur le développement des anticorps

Halpern et coll. rapportent les résultats des travaux de Gruskay et Cooke comparant deux groupes de nourrissons. Chez les nourrissons normaux, âgés de une semaine à dix-neuf mois, la quantité d'ovalbumine retrouvée dans le sérum une à deux heures après administration de 1 g d'ovalbumine est en moyenne de 4 mg/litre de sérum. Chez les nourrissons convalescents de gastro-entérite aiguë, la quantité retrouvée dans le sérum est de 23 mg/litre en moyenne. La quantité absorbée directement est donc 6 fois supérieure. Cependant, on ignorait dans ces expériences l'état exact de la muqueuse [18].

II. — LES DIFFERENTES METHODES D'ETUDE DES ANTICORPS AUX PROTEINES ALIMENTAIRES

Les recherches sur les anticorps circulants sont déjà anciennes. Dès 1923, Schloss et Anderson démontrent que beaucoup d'enfants nourris au lait de vache développent des anticorps précipitant le lait.

Les recherches se sont multipliées par la suite et les techniques se sont perfectionnées.

Les méthodes suivantes ont été utilisées :

1) La réaction de précipitation, dite de l'interface (« *Ring-test* »)

Elle consiste à introduire successivement dans un tube capillaire la solution de l'antigène, puis le sérum à étudier. La réaction est positive lorsque apparaît, en quelques instants, un anneau de précipitation au contact des deux liquides.

2) La réaction de fixation ou de déviation du complément

Dans un premier temps, on met en présence l'antigène et le sérum étudié. Si le sérum contient des anticorps, il se forme un complexe antigène-anticorps qui a la propriété de fixer le complément, qui est apporté avec du sérum de cobaye. En revanche, en l'absence d'anticorps, le complément n'est pas fixé et reste libre dans le sérum. Dans

un deuxième temps, on met en présence des globules rouges de mouton et un sérum hémolytique de lapin hyperimmunisé, préalablement décomplémenté. A ce mélange, on additionne le sérum de cobaye qui a été mis en présence du sérum étudié et de l'antigène. En cas de persistance du complément, on obtient une hémolyse des globules rouges de mouton. En cas de fixation préalable du complément, totale ou partielle, il n'y a pas d'hémolyse ou celle-ci reste modérée. La réponse est positive et on peut faire un dosage des anticorps en recommençant l'épreuve avec des dilutions successives du sérum.

3) La réaction de précipitation en gélose, selon la méthode d'Ouchterlony

L'immunodiffusion en gélose se fait sur des lames d'hématologie en utilisant de l'agar agar à 1,5 % pur ou mélangé en parties égales au véronal sodique de pH 8,6.

Des réservoirs de tailles variables, tantôt de 1,7 mm de diamètre, tantôt de 4 mm, sont disposés à une distance de 5 mm d'une fente de 1 mm de large et de 3 cm de long.

Cette fente est remplie de la solution de l'antigène et les différents réservoirs contiennent les échantillons de sérum à étudier, soit différents sérums à une même dilution, soit le même sérum à des dilutions successives ou, au contraire, la fente contient le sérum à étudier et les réservoirs les antigènes ou les dilutions successives d'antigène.

4) La réaction d'hémagglutination passive, utilisant les hématies tannées, technique de Boyden et Gunther [6]

Elle consiste en un premier temps à mêler à égal volume une suspension de globules rouges humains frais du groupe 0 traités par l'acide tannique à une solution de protéine antigène. On obtient ainsi une suspension de globules revêtus d'antigène.

En un deuxième temps, cette suspension est mise au contact de dilutions successives du sérum à étudier. La lecture de l'agglutination se fait sur l'aspect des globules lors de la sédimentation.

5) L'hémagglutination passive a la benzidine

Elle consiste à obtenir la fixation de l'antigène à la surface de l'hématie par double diazotation grâce à la présence de la benzidine.

On utilise habituellement des hématies de lapin. On procède ensuite comme pour la technique de Boyden avec les hématies tannées. Nous reviendrons en détail sur cette technique.

6) L'anaphylaxie cutanée passive chez le cobaye

On injecte dans le derme du cobaye le sérum à étudier porteur d'anticorps, à des dilutions successives. Six heures plus tard, l'antigène sensibilisant mélangé à une solution de bleu d'Evans est injecté par voie veineuse. Les animaux sont sacrifiés dix minutes plus tard et on évalue la dilution la plus grande ayant donné une réaction seuil. En effet, si l'anticorps est présent dans le sérum préalablement injecté, on admet qu'il est capable de se fixer sur les tissus dans un délai de six heures et de retenir alors l'antigène injecté dans la circulation, ce qui se traduit par une coloration macroscopiquement visible au point d'injection du sérum.

III. — LES RESULTATS

Nous passerons en revue les principaux résultats publiés jusqu'ici en distinguant trois groupes de travaux :

1) Les recherches effectuées chez des malades porteurs d'une maladie cœliaque par rapport à un groupe de témoins. Elles concernent essentiellement les anticorps au gluten (ou à la gliadine), mais plusieurs auteurs ont également recherché chez de tels malades les anticorps aux protéines de lait de vache.

2) Les recherches sur des populations d'individus classés en fonction de l'âge et du régime, quel que soit leur état de santé.

3) Les recherches sur un groupe de sujets considérés comme intolérants aux protéines du lait de vache centrées sur les anticorps au lait frais cru écrémé, aux protéines solubles du lait, à la caséine, à la β-lactoglobuline et dans certains cas à l'α-lactalbumine et à la sérumalbumine bovine.

Dans l'ensemble, il n'est pas toujours facile de comparer les chiffres obtenus, car les conditions du diagnostic clinique et biologique ne sont pas identiques et surtout les techniques de dosage des anticorps varient d'un auteur à l'autre, de même d'ailleurs que l'interprétation des résultats obtenus.

Par exemple, dans les travaux que nous rapportons ci-dessous à propos des maladies cœliaques, ont été utilisées :

— l'hémagglutination passive des hématies tannées (TAYLOR);
— la détection des précipitines par la méthode d'Ouchterlony (HEINER, POKORNA);
— la fixation du complément (BERGER).

Or ces différentes méthodes ont une sensibilité très différente variant de 1 à 1.000 [20].

On peut les classer comme suit dans l'ordre de sensibilité croissante, d'abord :

1° La précipitation en gélose d'Ouchterlony-Crowle, la moins sensible.
2° Le « ring test ».
3° La fixation du complément.
4° L'hémagglutination passive par les hématies tannées, en abrégé TRCA.
5° L'hémagglutination passive par la benzidine, la plus sensible des méthodes en tube.
6° L'anaphylaxie cutanée passive, qui semble être d'une sensibilité encore plus grande et peut-être plus spécifique (SAPERSTEIN [36]). Elle est malheureusement d'une pratique peu courante.

A) Les anticorps dans la maladie cœliaque

1) LES ANTICORPS ANTIGLUTEN

Pour plus de clarté dans l'exposé des divers résultats, nous précisons à chaque fois la technique de recherche et l'antigène utilisé.

- *Le travail de* TAYLOR *et coll. publié en 1961* [39] :
  — Technique : hémagglutination passive des globules rouges traités par le tannin.
  — Antigène : fraction III du gluten de Frazer.

TABLEAU I

Fraction III du gluten	Négatif	1/20	1/200	1/2.000	1/20.000	Totaux
Coeliaques	5	4	9	4	2	24
Témoins (enfants)	25	15	5	4	1	50

Il y a une proportion nettement significative de taux élevés de 1/200e à 1/20.000e dans le groupe des cœliaques par rapport aux témoins.

- HEINER *et coll.* (*1962*) [22] *Tableau II :*

Ils retrouvent, par la microméthode d'Ouchterlony d'immunodiffusion en gélose, un pourcentage plus élevé dans la maladie cœliaque que chez les témoins de précipitines, contre trois antigènes : farine, gliadine-fraction I et lait.

- BERGER *et* FREUDENBERG (*1963*) [3] *Tableau III :*

— Technique : fixation du complément.
— Antigène : gliadine pure.
— Matériel : 52 enfants atteints de maladie cœliaque soupçonnée ; 51 témoins âgés de trois à treize ans. (Il s'agissait de sujets hospitalisés pour une raison quelconque.)

Ils concluent que la différence entre les deux catégories est très significative et « que ces résultats montrent une relation entre la maladie cœliaque et l'apport de la gliadine par l'alimentation qui peut être le mieux expliquée par une allergie entérale ».

- *Le travail de* POKORNA *et coll.* (*Prague, 1963*) [33] *Tableau IV :*

— Technique : immunodiffusion en gélose d'Ouchterlony.
— Antigène : extrait alcoolique de farine de blé et de seigle.

210 sujets ont été testés, âgés de quinze mois à seize ans.

Pour les enfants du troisième groupe, la confirmation de l'intolérance à la gliadine a été obtenue par les épreuves de suppression, puis de réintroduction de gluten dans leur régime.

Nous rapprocherons de ces travaux, tous effectués sur des sérums d'enfants atteints de maladie cœliaque, *les recherches d'anticorps antigliadine faites chez des sujets adultes atteints de stéatorrhée idiopathique.*

- *Les résultats de* TAYLOR *et coll.* (*1964*) [39] *Tableau V :*

— Technique : hématies tannées.
— Antigène : la fraction III du gluten de Frazer.

- ALARCON-SENOVIA (*1964*) [1] *et coll. Tableau VI :*

Ils ont étudié le sérum de « 34 sujets atteints de stéatorrhée idiopathique ou sprue non tropicale », dont 32 avaient des lésions caractéristiques à la biopsie, par comparaison avec 90 témoins atteints d'affections variées.

	Antigènes		
	Farine	Gliadine	Lait
Maladies coeliaques confirmées par biopsie (25 cas)			
- positifs chez l'enfant	5	6	5
- positifs chez des adultes	4	4	3
	9	10	8
Maladies coeliaques confirmées cliniquement (15 cas)			
- positifs chez l'enfant	5	6	7
- positifs chez des adultes	0	0	0
Témoins: 72 sujets bien portants			
- enfants normaux	0	0	9
- adultes normaux	1	0	3

TABLEAU II

TABLEAU III

	Maladies coeliaques cliniquement soupçonnées	Témoins
1. Négatif	10 (19,2 %)	23 (45,1 %)
2. de 1/3 à 1/9	15 (28,8 %)	23 (45,1 %)
3. de 1/27 à 1/243	16 (30,8 %)	5 (9,8 %)
4. > 1/243	11 (21,1 %)	0
jusqu'à > 1/59.000		
Totaux	52	51
Catégories 1 et 2 c'est-à-dire de 0 à 1/9	25 (48 %)	46 (90,2 %)
Catégories 3 et 4 c'est-à-dire de 1/27 à 1/59.000	27 (52 %)	5 (9,8 %)

Gliadine	Nombre de cas	Nombre de cas positifs	Pourcentage des cas positifs
Enfants non atteints de maladie coeliaque	108	0	0
Enfants avec symptômes de maladie coeliaque mais diagnostic non confirmé	75	15	20 %
Enfants avec maladie coeliaque confirmée	27	19	70,37 %

TABLEAU IV

TABLEAU V

Fraction III du Gluten	Négatif	1/20	1/200	1/2.000	1/20.000	Totaux
Stéatorrhée idiopathique	14	11	10	9	1	45
Témoins (adultes)	45	14	4	1	-	64

Pour les études sérologiques, deux méthodes :

— l'hémagglutination passive avec les hématies tannées revêtues par l'antigène (BOYDEN);

— l'épreuve de diffusion en gélose selon la technique d'Ouchterlony.

L'antigène : la fraction III du gluten de Frazer.

TABLEAU VI

Gliadine	T R C A (Boyden)			Cas positifs en gélose (Ouchterlony)	Totaux
	Négatif 0-1/32	1/64-1/1024	1/2048-1/16384		
Stéatorrhées idiopathiques :					
- consommant du gluten	2	4	11	3	17
- sans gluten	16	1	0	0	17
Témoins	90	0	0	0	90

15 résultats positifs ont été relevés chez les 17 sujets qui avaient un régime normal, au gluten, lors de l'examen ; un autre était au régime, sans gluten, mais depuis moins de trois mois. Au surplus, tous ceux qui ont un taux supérieur à 1/1.024e ont du gluten dans leur alimentation.

Les anticorps disparaissent progressivement du sang circulant dans les mois qui suivent la suppression du gluten de l'alimentation avec, pour certains, une chute brusque du taux des anticorps après trois mois de régime.

Les recherches d'anticorps à la gliadine ont été faites le plus souvent par rapport à un groupe de témoins non sélectionnés, c'est-à-dire soit des sujets bien portants, soit des malades atteints d'affection autre que la maladie cœliaque chez les enfants, ou que la stéatorrhée idiopathique chez les adultes.

Cependant, certains auteurs ont fait des études parallèlement sur des groupes de malades présentant des symptômes intestinaux plus ou moins proches de la maladie cœliaque. Citons :

- HEINER *et coll.* (*1962*) [22] :

TABLEAU VII

Diagnostic	Nombre de patients	Précipitines positives		
		Farine	Gliadine I	Lait
Coeliaquies (vérifiées par biopsie)	25	9	10	8
Coeliaquies (cliniquement affirmées)	15	5	6	7
Fibrose kystique du pancréas	15	1	0	2
Allergie gastro-intestinale au lait	26	1	0	16
Autres diarrhées chroniques	40	4	0	8
Troubles allergiques	187	6	0	17
Anémie ferriprive	109	4	0	74
Syndromes variés	747	20	1	178
Enfants sains	48	0	0	9
Adultes sains	24	1	0	3
Totaux :	1236	51	17	322

- TAYLOR *et coll.* (*1964*) [39] :
  - — Antigènes : fraction III du gluten, caséine, α-lactalbumine, β-lactoglobuline.
  - — Technique : hémagglutination passive des hématies tannées revêtues de l'antigène étudié (TRCA).

TABLEAU VIII

Maladies	Nombre de sérums testés	Antigènes			
		Gluten Fraction III	Caséine	α Lactalbumine	β Lacto-globuline
Aphtose ulcéreuse buccale	36	+	++	+	+
Anémie pernicieuse	50	+	-	-	+
Ulcère duodénal	24	+	-	-	-
Maladie coeliaque	17	++	++	++	++
Stéatorrhée idiopathique	42	++	++	++	++
Entérite régionale	33	-	-	-	-
Colite ulcéreuse	75	+	++	-	++

Signification des signes :
— : aucune différence significative par rapport au groupe témoin.
+ : différence significative (P moins de 0,05).
++ : différence très significative (P moins de 0,01).

2) Les anticorps aux protéines du lait recherchés chez les sujets atteints de maladie cœliaque

• Heiner (*1962*) [22] *et* Taylor (*1964*) [39] :

Les anticorps aux protéines du lait de vache ont été dosés également chez leurs malades.

1) Voir plus haut les résultats de Heiner (*Tableau II*).

2) Il est intéressant de détailler les résultats de Taylor et coll. en ce qui concerne les maladies cœliaques par rapport aux témoins.

TABLEAU IX

	Négatif	1/20	1/200	1/2.000	1/20.000	Totaux
CASEINE						
- Coeliaques	-	3	11	3	-	17
- Témoins	6	37	7	-	-	50
∝LACTALBUMINE						
- Coeliaques	-	-	1	8	8	17
- Témoins	26	11	8	4	1	50
βLACTOGLOBULINE						
- Coeliaques	2	5	4	6	-	17
- Témoins	26	11	8	4	1	50

Les taux d'anticorps aux trois protéines étudiées sont nettement élevés par rapport au groupe témoin.

On peut en rapprocher les chiffres trouvés au cours des stéatorrhées idiopathiques de l'adulte :

• *Selon* Taylor *et coll.* (*1964*) [39] :

— Technique : mise en évidence des agglutinines par les hématies tannées.

TABLEAU X

	Négatif ou moins 1/20	1/200	1/2.000	1/20.000	Total
CASEINE					
- Stéatorrhée idiopathique	33	15	4		42
- Témoins (adultes)	42	5	0		47
∝LACTALBUMINE					
- Stéatorrhée idiopathique	4	16	13	9	42
- Témoins	23	21	3	0	47
βLACTOGLOBULINE					
- Stéatorrhée idiopathique	20	14	7	1	42
- Témoins	44	3	0	0	47

TABLEAU XI

	T R C A (Hématies tannées)			Ouchterlony (précipitines)	Totaux
	Négatifs	Positifs			
		1/64-1/1024	1/2048→		
CASEINE					
- Stéatorrhées idiopathiques					
- consommant du gluten	4	10	2	0	16
- sans gluten	14	2	1	0	17
- Témoins	82	8	0	0	90
βLACTOGLOBULINE					
- Stéatorrhées idiopathiques					
- consommant du gluten	1	10	4	0	15
- sans gluten	6	10	1	1	17
- Témoins	78	11	1	0	90

CONCLUSION

A la lecture de l'ensemble de ces travaux, il apparaît nettement que la fréquence des anticorps à la gliadine est beaucoup plus élevée chez les malades atteints de maladie cœliaque, tout au moins lorsque leur alimentation contient du gluten ou bien quand le gluten a été supprimé depuis moins de trois mois.

Lorsque sont utilisées les techniques qui permettent un dosage des anticorps telle que l'hémagglutination passive, les taux les plus élevés, dans l'ensemble supérieurs à 1/256e, se rencontrent exclusivement chez les enfants souffrant de maladie cœliaque et avant l'institution du régime sans gluten.

L'épreuve, selon tous les auteurs, a donc une grande valeur pour le diagnostic, cependant un résultat négatif ne permet pas d'écarter définitivement celui-ci.

La répétition des dosages dans les semaines et les mois qui suivent l'institution du régime montre une diminution progressive du taux des anticorps. Dans l'ensemble, celui-ci est revenu aux chiffres habituellement constatés chez les témoins, au-delà de trois mois de régime.

On constate également une fréquence assez élevée d'anticorps aux protéines du lait de vache aussi bien pour les maladies cœliaques de l'enfant que pour les stéatorrhées idiopathiques de l'adulte. Enfin, il est très important de remarquer (travaux de HEINER et de TAYLOR) qu'au cours des maladies gastro-intestinales autres que les syndromes de malabsorption induits par la présence du gluten dans l'alimentation, on ne trouve jamais une fréquence comparable d'anticorps à la gliadine ni, pour HEINER, d'anticorps aux protéines du lait de vache.

B) Etudes des anticorps aux protéines du lait de vache chez l'enfant en dehors des maladies cœliaques

De telles recherches ont déjà été faites depuis longtemps, sur de nombreux groupes d'enfants. Mais elles n'ont été que très rarement effectuées au cours des intolérances au lait. Si bien que la plupart des auteurs ne définissent pas de véritable syndrome d'intolérance, mais essaient de dégager un syndrome commun à tous les enfants chez qui on a décelé des anticorps contre les protéines du lait de vache. Ces recherches ont été effectuées, par exemple, chez tous les enfants hospitalisés dans un service de pédiatrie. La fréquence de ceux qui pourraient être réellement suspectés d'intolérance au lait de vache est, dans ces conditions, très faible. Citons les travaux les plus récents de Holland (1962) [25], de Heiner (1962) [23], de Taylor (1964) [39], de Peterson (1963) [32], de Gunther (1962) [17], de Berger (1963) [7], de Fontaine (1964) [12].

- *L'étude de* Gunther *et coll. (1962)* [17] :

  Elle porte sur trois groupes :

  a) nouveau-nés ;

  b) nourrissons de un mois et demi jusqu'à deux ans ;

  c) adultes.

  — Technique : l'hémagglutination passive des hématies tannées.

  — Antigène : fraction soluble des protéines du lait de vache.

TABLEAU XII

	0 à 1/16	1/32 à 1/256	1/512 et +	Totaux
Nouveau-nés	101	6	1	108
Nourrissons (de 7 à 97 semaines)	148	134	4	286
Adultes	90	8	0	98

La fréquence des anticorps est faible chez le nouveau-né et elle est comparable à celle trouvée chez l'adulte. Le taux élevé trouvé chez un seul nouveau-né est probablement dû à des anticorps transmis de la mère.

Les anticorps sont beaucoup plus fréquemment observés et à des taux beaucoup plus élevés chez les nourrissons âgés de sept à quatre-vingt-dix-sept semaines.

La découverte d'anticorps élevés chez les nourrissons ayant reçu précocement du lait de vache tendrait à démontrer qu'un enfant très jeune peut développer des anticorps circulants, ceci dès le huitième ou le neuvième jour de la vie.

- *Le travail de* HEINER *et coll. (1962)* [23] :
  - — Antigènes : lait de vache entier écrémé, α-lactalbumine, β-lactoglobuline, caséine.
  - — Technique : diffusion en gélose révélant les précipitines.

L'étude porte sur 2.200 sujet dont 65 enfants atteints de maladies respiratoires chroniques, 1.000 tuberculeux, quelques sujets soupçonnés d'intolérance au lait, le reste étant constitué de sujets normaux (adultes et enfants).

TABLEAU XIII

Résultats positifs	Nombre	Précipitines
Affections respiratoires chroniques (enfants)	65	3
Tuberculeux	1000	3
Intolérances au lait		2
Témoins	930	0
Totaux :	2200	8

- *Les résultats de* R. FONTAINE *(1964)* [12] :
  - — Technique : précipitation en gélose.
  - — Antigène : le lait cru entier de vache.

TABLEAU XIV

	Nombre de sérums étudiés	Résultats positifs
Nouveau-nés	200	0
Nourrissons	285	
- Normaux - Morts subites (3 cas) - Affections respiratoires - Hypotrophie - Diarrhée - Anémie - Allergie respiratoire (63 cas)		2
Adultes témoins	30	0
Total :	515	2

« Deux résultats positifs seulement sur 515. Il s'agissait de deux enfants de moins d'un an en convalescence de gastro-entérite aiguë et chez lesquels la méthode d'Ouchterlony a révélé l'existence d'un trait de précipitation unique vis-à-vis du lait de vache cru, ainsi d'ailleurs que vis-à-vis des fractions caséiniques et des fractions β-lactoglobuliniques. »

- PETERSON (*1963*) :

Dosage des précipitines décelées par la technique de Crowle-Ouchterlony [31].

TABLEAU XV

Diagnostics	Nombre testé	Positifs	Diagnostics	Nombre testé	Positifs
Pneumonie récurrente ou chronique	14	10	Méningite	1	1
Syndrome d'Aldrich	5	4	Mongolisme	1	1
Syndrome de Hurler	9	5	Sarcome	1	1
Cardiopathies congénitales	8	5	Arthrite rhumatoïde	1	1
Asthme	19	2	Syndrome coeliaque	2	2
Convulsions	5	2	Albuminurie	2	1
Diarrhée	3	2	Anaphylaxie sévère pour le lait	1	1
Anémie par carence martiale	2	1			

Il est difficile de tirer une conclusion précise de ces résultats, cette liste ne comprenant qu'un seul malade cliniquement allergique au lait sur 74. La recherche a été faite pour les AC au lait frais cru, au lait pasteurisé et aux protéines purifiées du lait, mais il n'est pas précisé si les résultats positifs le sont pour tous ou pour seulement certains de ces antigènes.

C) Les recherches d'anticorps dans le sang circulant chez les malades présentant une intolérance au lait de vache

GOLDMAN et coll. [15] et SAPERSTEIN et coll. (1963) [36]. Il s'agit d'une étude à laquelle ont collaboré de nombreux pédiatres et allergologistes. Parmi 700 enfants réputés allergiques au lait, 150 ont été pris en considération après enquête et examen clinique, et surtout lorsque après l'ingestion d'une quantité minime de lait, les

symptômes habituels de leur intolérance se trouvaient reproduits, ceci sous surveillance médicale. Les symptômes ainsi déclenchés par l'ingestion orale du lait étaient assez variés : vomissements, diarrhée, douleurs abdominales ou coliques, mais aussi rhinite, asthme, dermatite prurigineuse, urticaire, et chez quelques-uns seulement (9 %) des accidents de type anaphylactique (pâleurs, sueurs, signes de choc).

Pour les épreuves sérologiques, trois techniques étaient utilisées parallèlement pour chaque sujet à chaque prélèvement :

— la double diffusion en agar selon la technique de Crowle ;
— l'hémagglutination passive d'hématies traitées par l'acide tannique (TRCA);
— l'anaphylaxie cutanée passive (P.C.A.).

79 sujets allergiques ont ainsi été étudiés et comparés à un groupe de 51 sujets allergiques à un autre antigène et à 40 témoins. (L'âge des enfants variait entre quelques semaines et onze ans.) Chaque fois que la chose était possible, pour les patients du premier groupe, un deuxième échantillon de sérum était prélevé après plusieurs mois de régime sans lait.

TABLEAU XVI

	Nombre	Diffusion en gélose	P.C.A.	T R C A Titre d'hémagglutination	
		Positifs	Positifs	Moyens	Extrêmes
Allergiques au lait	79	4	53	32	2 - 2048
Autres allergies	51	3	4	256	2 - 4096
Sujets normaux	40	2	4	64	2 - 4096

La conclusion des auteurs est que ni la diffusion en gélose, ni l'hémagglutination passive ne permettent le diagnostic d'allergie au lait, seule l'anaphylaxie cutanée passive aurait une réelle valeur et serait spécifique.

Une remarque s'impose : pour l'hémagglutination, les sérums n'ont été testés que vis-à-vis des protéines totales du lait ; pour la diffusion en gélose, que vis-à-vis du lait et du babeurre. C'est seulement pour la technique PCA qu'ont été utilisées la caséine, l'α-lactalbumine, la β-lactoglobuline, la sérumalbumine bovine du lait et le lait complet.

Voici quels sont les résultats avec les différents antigènes (technique PCA).

TABLEAU XVII

	Caséine	β Lacto-globuline	α Lactalbumine	B S A	Lait
Sujets positifs	30	27	9	19	53

Cette étude est complétée par un tableau mettant en relief les relations entre les résultats au test PCA et le temps écoulé depuis le début du régime sans lait.

TABLEAU XVIII

Durée de régime sans lait (en mois)	P C A	
	Positifs	Négatifs
⩽ 1	35	6
1 - 2	8	4
2 - 3	3	3
3 - 4	5	2
> 4	1	9
Durée inconnue	2	1
Totaux :	54	25

On observe ainsi une nette diminution des résultats positifs au-delà de quatre mois de régime sans lait.

CONCLUSION

Les résultats publiés par les différents auteurs ne sont pas facilement comparables. Les antigènes utilisés varient de l'un à l'autre, ils ne sont pas systématiquement étudiés chez tous les sujets. Il y a de très grosses discordances dans l'appréciation de la valeur des techniques.

Cependant, de ces travaux, se dégagent quelques points :

1° On trouve souvent chez l'enfant, surtout dans les deux premières années de la vie, des anticorps aux protéines totales du lait de vache, à condition de recourir à une technique suffisamment sensible : fixation du complément, hémagglutination passive et anaphylaxie cutanée passive.

2° Chez les sujets qui ont une intolérance clinique au lait, par la technique de l'anaphylaxie cutanée passive, selon SAPERSTEIN et coll. [36], la proportion de réactions positives est très forte ; la disparition de celles-ci après un délai plus ou moins long de régime sans lait de vache vient confirmer la valeur de cette constatation. Si l'on utilise, par contre, le test d'hémagglutination passive, il n'y a pas de différence significative entre les malades intolérants et le groupe des témoins.

3° On ne peut donc porter un diagnostic d'intolérance au lait sur la seule mise en évidence d'anticorps aux protéines du lait de vache chez le nourrisson. Il faut, pour un tel diagnostic, étudier parallèlement l'évolution du taux des anticorps et les modifications de l'état clinique et biologique de l'enfant lors des périodes de suppression du lait du régime et des périodes de réintroduction.

CHAPITRE II

ETUDE PERSONNELLE

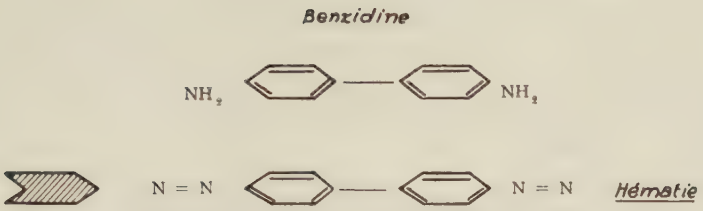
Nous avons utilisé la technique de l'hémagglutination passive par la benzidine et recherché la présence et le taux des anticorps à la gliadine et aux protéines du lait de vache chez quatre groupes d'enfants :

— 29 enfants atteints de maladie cœliaque ;
— 6 enfants atteints d'intolérance au lait de vache ;
— 68 témoins ;
— 13 convalescents de gastro-entérite aiguë.

I. — MISE EN EVIDENCE ET DOSAGE DES ANTICORPS CIRCULANTS PAR LA TECHNIQUE DE L'HEMAGGLUTINATION PASSIVE A LA BENZIDINE

A) Principe

La plupart des anticorps responsables de sensibilisation spontanée chez l'homme ne forment pas de complexe précipitant avec l'antigène correspondant. On ne peut donc pas les déceler par la formation d'agrégats insolubles. On a pour cela recours au phénomène d'hémagglutination passive qui consiste, en un premier temps, à fixer l'antigène sur des hématies et, en un deuxième temps, à observer l'hémagglutination obtenue par addition d'un sérum contenant l'anticorps spécifique. Le principe de la méthode à la benzidine est le suivant : en mélangeant hématies, benzidine et antigène, on obtient par double diazotation la fixation de l'antigène à une protéine située à la surface de l'hématie, selon le schéma suivant :



L'antigène se trouve ainsi lié par une sorte de pont chimique à l'hématie qui le suit alors dans tous ses déplacements et combinaisons. En absence d'anticorps, les hématies sédimentent normalement. En présence de l'anticorps spécifique, il se produit un phénomène d'agglutination.

Cette réaction est quantitative, il suffit de réaliser des dilutions successives en sérum physiologique, du sérum à étudier, et de noter la dilution jusqu'à laquelle se produit l'agglutination.

Cette technique a également l'avantage d'être très stable, beaucoup plus que la technique de Boyden, utilisant la simple adsorption d'anticorps sur les hématies tannées, car une dissociation d'une certaine quantité d'antigène a été signalée dans cette dernière méthode.

La technique a été décrite par CAMPBELL et PAULING, STAVISKY et ARQUILA, SEHON et FRICH, et mise au point par HALPERN et coll. [20].

B) Les antigènes

- *La gliadine* [29] :

  Les protéines du blé peuvent être divisées en quatre groupes :
  — les albumines solubles dans l'eau ;
  — les globulines solubles dans les solutions salines neutres ;
  — les prolamines solubles dans l'alcool à 70° ;
  — les glutélines solubles dans les solutions faiblement alcalines ou légèrement acides.

La fraction des prolamines correspond à la gliadine qui est donc, elle-même, hétérogène et peut être séparée en plusieurs composants : les gliadines α_1 et α_2 (P.M. 200.000) qui représentent environ 59 % de la gliadine ; les gliadines β_1, β_2 et β_3 (P.M. 42.000) pour environ 20 % ; la gliadine γ (P.M. 47.000) (18 %) ; enfin la fraction minimum ω (3 %).

Leur composition en acides aminés est très particulière en raison de leur exceptionnelle richesse en glutamine et en proline.

L'hydrolyse par la pepsine, la trypsine, la chymotrypsine et les carboxypeptidases A et B aboutit à un produit stable à la chaleur et ultrafiltrable (la fraction III du gluten de Frazer) qui a conservé son action toxique.

Il en va de même du produit obtenu par extraction avec l'éthanol à 70° suivie d'une ultracentrifugation (fraction Guf). L'antigène que nous avons utilisé au cours de ce travail est un extrait alcoolique de gluten de blé en suspension dans la glycérine. Il est fourni par les « Hollister-Stier-Laboratories » (U.S.A.).

• *Les protéines de lait de vache (d'après* J. GARNIER) [14] :

On peut distinguer deux groupes différents de protéines du lait d'après leur lieu de synthèse :

Celles qui proviennent du sang par simple filtration à partir du courant sanguin, c'est le cas de la sérumalbumine bovine et des immunoglobulines ; et celles qui sont synthétisées dans le tissu de la glande mammaire elle-même : ce groupe comprend la β-lactoglobuline, l'α-lactalbumine et la majeure partie des caséines, en particulier la caséine α et la caséine β.

a) *Les caséines* précipitent par acidification à pH 4,6. Elles sont formées d'un grand nombre de constituants dont l'identification est complexe et encore controversée ; les principaux sont les caséines α et β dont il existe pour chaque groupe trois types génétiques A, B et C, et la caséine qui donne au lait son homogénéité. Elles représentent 80 % des protéines totales, soit environ 25 g par litre.

b) *Les protéines du lactosérum,* ou encore protéines solubles, car elles restent en solution après la précipitation des caséines par acidification, représentent 18 à 20 % des protéines totales du lait de vache, soit environ 5,5 à 6,5 g par litre.

Parmi ces protéines, 80 % sont constituées par les albumines, β-lactoglobuline, α-lactalbumine, sérumalbumine et les immunoglobulines.

1) La β-lactoglobuline représente elle-même de 45 à 50 % des protéines solubles, soit 2,4 à 3,2 g par litre. Il en existe deux types génétiques, A et B. Elle peut être séparée par la méthode d'Aschaffenburg et Drewry (1957). Après précipitation de toutes les protéines du lait à l'exception des albumines, en ajoutant 20 g de sulfate de sodium anhydre à 100 ml de lait, le filtrat est amené à pH 2 par addition d'acide chlorhydriques, seules la β-lactoglobuline et les

substances azotées non protéiques restent en solution. Puis elle est facilement obtenue sous une forme cristallisée à l'état pratiquement pur.

2) L'α-lactalbumine (20 %) est retrouvée au taux de 1,1 à 1,3 g par litre. Elle peut être obtenue au cours de la même technique d'Aschaffenburg et Drewry, car elle est contenue dans le précipité formé lors de l'addition d'acide chlorhydrique. Ce précipité cependant contient encore des quantités appréciables de produits plus ou moins définis, parmi lesquels la sérumalbumine, deux autres protéines migrant plus rapidement à l'électrophorèse et surtout de la β-lactoglobuline. Ceci enlève en pratique beaucoup d'intérêt à son utilisation comme antigène pour les études immunologiques.

Il est certes possible d'obtenir une α-lactalbumine cristallisée beaucoup plus pure par fractionnement par le sulfate d'ammonium, précipitation à pH acide et filtration finale. Mais cette préparation contient encore comme principale impureté de la β-lactoglobuline.

Finalement, nous avons dû l'écarter de notre étude, faute de pouvoir l'obtenir à l'état pur en quantité suffisante.

3) La sérumalbumine représente 5 % des protéines solubles, soit de 0,25 à 0,35 g par litre :

— Les immunoglobulines et les protéoses peptones constituent respectivement 10 et 10 à 15 % des protéines solubles.

— Les autres protéines (protéine rouge, protéine de la membrane des globules gras, enzymes du lait) représentent pour leur part 1 à 2 %.

Nous tenons à remercier particulièrement MM. G. Mocquot, J. Garnier et Maubois, du Laboratoire de Recherches Laitières du C.N.R.S. (Jouy-en-Josas), qui nous ont guidé de leurs précieux conseils et qui nous ont fourni les fractions protéiques nécessaires à notre expérimentation.

STABILITÉ DE L'ANTIGÉNICITÉ DES PROTÉINES DU LAIT APRÈS ÉBULLITION OU ÉVAPORATION

Ratner et coll. (1958) [34] ont étudié l'antigénicité des fractions du lait avant et après traitement par la chaleur en déterminant deux actions :

— d'une part, la capacité du produit à sensibiliser un animal ;

— d'autre part, la capacité de déterminer un choc chez un animal préalablement sensibilisé.

L'évaporation affecte les protéines du lait de façon suivante :

— l'α-lactalbumine perd ces deux propriétés ;

— la β-lactoglobuline perd la capacité de sensibilisation, mais conserve la capacité d'entraîner un choc ;

— la caséine est seulement affectée par les hautes températures.

Saperstein et Anderson, aux Etats-Unis (1962) [35], ont démontré que l'α-lactalbumine, la β-lactoglobuline, la caséine conservaient leurs propriétés antigéniques dans la plupart des formules du lait de commerce.

Luzz et Todd (1964) [30] ont à leur tour démontré que la β-lactoglobuline et la caséine étaient présentes dans le lait chauffé à 245°F, soit 136°C, pendant treize et dix-neuf minutes, et qu'elles conservaient leur antigénicité. Parmi les protéines du lait, la sérumalbumine bovine (BSA) est la plus sensible à la chaleur, la caséine et la β-lactoglobuline sont les plus stables, l'α-lactalbumine est intermédiaire.

D'autre part, ils ont pu démontrer que le lait évaporé conservait les trois protéines allergéniques : α-lactalbumine, β-lactoglobuline et caséine.

Ces conclusions, disent-ils, indiquent que le lait dénaturé par la chaleur n'est pas un substitut sûr dans le régime des sujets sensibilisés au lait.

CONCLUSION

Dans notre recherche d'une sensibilisation au lait avec présence d'anticorps circulants chez les malades atteints de diarrhée chronique, qu'il s'agisse de maladie cœliaque ou d'intolérance au lait, nous avons utilisé comme antigènes :

— la *caséine ;*

— la *fraction soluble des protéines* obtenue après précipitation de la caséine ;

— la *β-lactoglobuline purifiée ;*

toutes trois conservées à la température de + 4° à l'état cristallisé, remises en suspension dans le sérum physiologique pour la pratique des réactions et conservées ensuite à — 20°.

Nous avons également utilisé au début le lait cru écrémé, mais nous n'avons décelé chez aucun sujet d'anticorps à un taux significatif, même chez ceux qui avaient un taux très élevé d'anticorps aux autres antigènes, si bien que nous avons renoncé par la suite à l'utiliser.

II. — LA TECHNIQUE DE L'HEMAGGLUTINATION PASSIVE A LA BENZIDINE

(*d'après* HALPERN et coll. [20])

1) PRÉLÈVEMENT DE SANG PAR PONCTION DE LA VEINE AURICULAIRE CHEZ LE LAPIN

On recueille :

a) Les hématies de lapin normal sur solution de Alsévère à volumes égaux.

Solution de Alsévère :

— Glucose	20,5 g
— Chlorure de sodium	4,2 g
— Citrate de sodium	8,0 g
— Acide citrique	0,550 g
— Eau q.s.p.	1.000 ml

conservée au frigidaire.

b) Le sérum du même lapin est utilisé comme diluant :

— Sérum de lapin	1 ml
— Tampon phosphate	99 ml

Tampon phosphate (pH 7,30) :

— Phosphate monopotassique anhydre	8,78 g
— Phosphate disodique I_2H_2O	84,40 g
— Eau q.s.p.	1.000 ml

conservé au frigidaire.

2) LES HÉMATIES SONT LAVÉES TROIS FOIS DANS DU SÉRUM PHYSIOLOGIQUE, puis elles sont centrifugées et décantées

3) LA FIXATION DE L'ANTIGÈNE SUR LES HÉMATIES EST OBTENUE EN PRÉSENCE DE BENZIDINE

Préparation de la benzidine :

Elle est préparée en solution mère :

— Benzidine	230 mg	solution A
— Eau distillée	41 ml	
— ClH normal	9 ml	

Refroidir à 0°.

Solution B :

— Nitrite de sodium	0,175 g
— Eau	quelques ml pour dissoudre

Ajouter la solution B à la solution A, goutte à goutte en agitant. Laisser dix à quinze minutes à 0°. Répartir la solution dans des tubes à hémolyse à raison de 0,2 ml par tube. Conserver ces tubes à — 20°.

Au moment de l'emploi, diluer au 1/15e avec la solution tampon, c'est-à-dire ajouter à ces 0,2 ml, 2,8 ml de tampon.

Pour réaliser la fixation de l'antigène, on prend successivement et on met dans un tube à hémolyse :

— l'antigène : la quantité est à préciser selon les circonstances. On utilise habituellement une quantité variant de 1 à 3 mg de protéines après avoir déterminé, par un dosage d'azote, la teneur en protéines dans la suspension d'antigène ;
— 1 ml de sérum physiologique ;
— du tampon phosphate (q.s.p.) : 3 ml ;
— les globules rouges de lapin dilués au 1/2 dans du sérum physiologique : 0,15 ml ;
— la benzidine en solution au 1/15e. La quantité est à déterminer selon l'antigène.

Opérer à 0°.

Laisser le mélange vingt minutes à la température du laboratoire. Centrifuger cinq minutes à 1.500 tours/minute. Laver deux fois avec le tampon phosphate. Centrifuger et décanter, et finalement ajouter le diluant jusqu'à un volume de 2,5 cm^3.

A ce moment, les globules marqués sont prêts à être utilisés.

4) Calcul du rapport benzidine-antigène

Le rapport antigène + benzidine + globules rouges doit être calculé avec précision et il faut toujours ultérieurement pratiquer les dosages dans les conditions optima, car on risque de voir se produire une diazotation entre deux molécules d'antigène ou entre deux hématies.

En pratique, on procède de la manière suivante (Halpern et coll. [70]) :

A un volume constant de globules rouges lavés et dilués au 1/2, on ajoute une quantité variable d'antigène. Généralement, l'échelle des quantités d'antigène va de 1 à 3 mg de protéines en augmentant de 0,5 mg dans chaque essai. Ces essais se pratiquent avec deux concentrations différentes de benzidine, c'est-à-dire 0,10 et 0,20 de la solution de benzidine. On choisit la solution qui donne, en l'absence de sérum, la sédimentation la plus franche de globules rouges et, en présence de l'immunsérum, l'hémagglutination la plus nette.

Après les essais en série pour déterminer le rapport optimum entre antigène, benzidine et globules rouges, nous avons utilisé les doses suivantes :

— pour la gliadine : 2 mg, et benzidine : 0,15 ml ;
— pour la caséine : 1 mg, et benzidine : 0,20 ml ;
— pour la fraction soluble : 1 mg, et benzidine : 0,20 ml ;
— pour la β-lactoglobuline : 2 mg, et benzidine : 0,25 ml.

5) Préparation du sérum étudié et mise au contact avec les hématies marquées

Il faut préalablement décomplémenter le sérum à tester en le laissant à 56° pendant trente minutes, puis l'épuiser de ses agglutinines naturelles en mettant : sérum : 2 ml + hématies lavées : 0,2 ml.

Laisser en contact trente minutes. Centrifuger cinq minutes à 1.500 tours/minute. Recueillir ensuite le sérum et faire des dilutions allant de 1/2 à 1/2.048e. Ces dilutions sont faites directement dans les alvéoles de la plaque à hémagglutination :

— on répartit 0,5 ml de diluant dans chaque alvéole de la plaque ;
— puis 0,5 ml du sérum à tester dans la première alvéole. On prend 0,5 ml de ce mélange que l'on verse dans l'alvéole suivante et ainsi de suite.

Il faut verser ensuite, dans chaque alvéole, deux gouttes de globules rouges marqués par l'antigène, et laisser au repos à la température de la pièce pendant six à douze heures en recouvrant la plaque d'une feuille de papier pour éviter l'évaporation.

Essais témoins :

Il est bon de réaliser systématiquement deux essais témoins :
— l'un avec des globules non marqués ;
— l'autre avec un sérum non immunisé et des globules marqués.

Lecture des résultats :

Elle se fait après six heures de repos, mais doit être contrôlée après douze heures.

Résultats négatifs :

On observe au fond de l'alvéole une petite pastille régulièrement ronde de 5 mm environ, formée de globules rouges sédimentés, le surnageant est parfaitement limpide.

Résultats positifs :

Dans ce cas, on observe, en partant des premières dilutions, la formation d'une couche d'hématies qui se dépose incomplètement sur les parois de l'alvéole sans former, comme dans les cas précédents, une pastille homogène. A partir d'une certaine dilution, on observe la formation de la pastille régulière d'hématies sédimentées en totalité au fond de l'alvéole. Le titre des anticorps est celui de la dernière dilution qui donne une réaction positive.

Epreuve d'épuisement :

La spécificité de la réaction d'hémagglutination induite par la présence des anticorps dans le sérum étudié peut être très facilement prouvée et contrôlée par l'épuisement des anticorps.

On épuise préalablement les anticorps en ajoutant à l'immunsérum un excès d'antigène et en procédant ensuite de la même manière que dans l'essai normal. Les résultats doivent être obligatoirement négatifs ou très faiblement positifs parfois lorsque le taux des anticorps est élevé (par exemple, titre de l'immunsérum : 1/2.048^{e}, titre de l'immunsérum épuisé : 1/4).

Nous avons fait cette épreuve d'épuisement pour la quasi-totalité de nos immunsérums positifs et nous avons toujours et systématiquement annulé les résultats positifs qui ne s'accompagnaient pas d'une contre-épreuve épuisée négative ou très légèrement positive.

6) Causes d'erreurs

Au cours des épreuves, certaines difficultés peuvent surgir :

a) L'hémolyse : elle peut s'observer lorsqu'on utilise des sérums normaux et gêner la lecture. La décomplémentation préalable supprime cet inconvénient.

b) L'altération des sérums :

— les sérums infectés peuvent entraîner une fausse agglutination. De toute façon, si l'agglutination est due à la contamination du sérum, elle persiste inchangée après épuisement. Tous nos sérums ont été conservés à — 15° ;

— le vieillissement du sérum peut modifier la teneur en anticorps et surtout le refroidissement puis le réchauffement. En moyenne, en deux à trois semaines, le taux des anticorps s'abaisse de une dilution passant par exemple de 1/1024 à 1/512.

III. — DISCUSSION DE LA VALEUR DE LA TECHNIQUE

1) Sensibilité et comparaison avec les autres techniques de détection des anticorps

La technique de l'hémagglutination passive est l'une des plus sensibles. Halpern et coll., en utilisant des sérums testés, ont pu établir qu'il est possible de déceler dans le sérum, la présence d'anticorps jusqu'à une dilution au millionième pour les sérums expérimentaux et jusqu'à une dilution au millième ou au 1/2.000e pour les sérums humains [20].

Pour obtenir une réaction positive de précipitation en milieu gélifié, on estime qu'il faut une concentration de 5 à 10 microgrammes d'anticorps par ml (évalués en azote), la réaction de précipitation en tubes capillaires nécessite 3 à 5 microgrammes d'anticorps, la réaction de fixation du complément 0,1 mg d'anticorps, alors que l'hémagglutination passive n'en demande que 0,002 mg N/anticorps/ml.

2) Stabilité des réactions

Pour avoir la certitude que le taux d'anticorps décelé à chaque épreuve est une donnée stable, et non soumise à des variations inhérentes aux techniques de laboratoire, nous avons contrôlé nos résultat de deux manières :

a) Dosage en double des anticorps d'un même sérum ; nous l'avons fait à chaque préparation nouvelle de la solution d'antigène en sérum physiologique (l'antigène étant conservé à l'état cristallisé à + 4° en frigidaire).

b) Prélèvement et dosage en double pour un groupe de malades et parallèlement pour un groupe de témoins. Les deux prélèvements étaient faits à quelques jours d'intervalle, sans aucune modification du régime alimentaire, et les dosages étaient faits en deux séances différentes, cette dernière condition pour écarter toutes les variations dues à la préparation de la benzidine.

- *Résultats :*

Les dosages en double au cours d'une même séance, mais avec deux préparations différentes du même antigène, aux mêmes concentrations bien entendu, ne donnent aucune modification sensible du titre des anticorps décelés.

Par contre, il existe, indéniablement, quelques variations, minimes toutefois, dans le taux des anticorps décelés dans deux échantillons différents de sérum d'un même sujet. Ces variations sont sans doute liées en grande partie aux conditions de conservation des échantillons.

Interprétation des résultats

Nous l'avons vu, l'hémagglutination par la benzidine est une méthode très sensible. La constatation d'une réaction positive pour des dilutions faibles de l'ordre de 1/2, 1/4 et 1/8^{e} est très courante quel que soit le sérum et quel que soit l'antigène utilisés.

Il en est d'ailleurs de même pour la technique d'hémagglutination utilisant les hématies tannées. De même que GUNTHER [17] et ALARCON [1], nous pensons qu'il faut distinguer des zones de négativité, et des zones de positivité.

En moyenne, l'expérience prouve qu'il faut considérer comme :
— négatifs, les taux de 0 à 1/32^{e} ;
— moyennement positifs, les taux de 1/64^{e} à 1/256^{e} ;
— fortement positifs, les taux supérieurs à partir de 1/512^{e}.

Tous nos résultats sont donc exprimés dans ces trois catégories.

CHAPITRE III

MATERIEL CLINIQUE

Les enfants étudiés se répartissent en quatre groupes.

1) Les témoins

Il s'agit d'enfants hospitalisés pour des raisons diverses, qui n'avaient pas la diarrhée lors de l'examen et autant que possible qui n'avaient jamais eu d'épisode diarrhéique grave ayant entraîné une déshydratation aiguë. Les enfants chez qui cet antécédent était retrouvé ont été écartés de la statistique.

L'étude a porté sur 68 témoins entre quinze jours et treize ans, se répartissant de la façon suivante :

— De 0 à 6 mois	15
— De 6 mois à 1 an	19
— De 1 an à 2 ans	16
— De 2 ans à 4 ans	12
— Au-dessus de 4 ans	6

2) Les enfants atteints de maladie cœliaque

Nous avons pu effectuer les recherches d'anticorps chez 29 des 35 malades qui sont suivis dans le Service du Professeur Maurice Lamy, à l'Hôpital des Enfants-Malades.

Chez tous ces enfants, le diagnostic a été porté avec certitude lors de la première hospitalisation, s'appuyant sur l'histoire clinique, sur la constatation de la stéatorrhée objectivée, au cours d'une période de bilan des apports et de l'élimination fécale, par le coefficient d'absorption des graisses qui est abaissé dans la totalité des cas (entre 63 et 90 %).

Les troubles de l'absorption des sucres ont été démontrés par les épreuves d'hyperglycémie provoquée par voie orale au glucose et au fructose, ainsi que par l'épreuve au xylose.

Chez 31 d'entre eux, l'étude radiologique du transit du grêle a été faite, révélant chez 21 des altérations nettes : ralentissement du transit, dilatation des anses, fragmentation et dilution de la baryte qui forme des masses variables nettement séparées les unes des autres.

Chez les 10 autres, les modifications sont moins manifestes mais demeurent cependant indéniables.

Chez 18 enfants, le diagnostic a, en outre, été confirmé par l'étude histologique de la muqueuse jéjunale prélevée par biopsie. Une atrophie partielle de la muqueuse a été observée chez 3 enfants, et une atrophie subtotale chez les 15 autres.

Trente-deux de ces enfants ont pu être observés à nouveau après une période de régime sans gluten de trois mois à quatre ans. Chez tous, l'amélioration clinique obtenue a été confirmée par la constatation d'un coefficient d'absorption des graisses normal ou subnormal (entre 88 et 97 %), ainsi que par l'amélioration des autres épreuves.

Chez 25 d'entre eux, une biopsie a pu être faite au cours de cette seconde hospitalisation : 9 fois la muqueuse était normale, 7 fois subnormale, et 7 fois on a observé une atrophie partielle, et dans 2 cas une atrophie subtotale.

Enfin, 17 enfants ont également été examinés après une période de réintroduction du gluten dans l'alimentation. Les symptômes traduisant la rechute de leur maladie étaient plus ou moins prononcés, mais sur les 13 biopsies intestinales qui ont été faites à ce moment chez ces enfants, 2 ont révélé une atrophie partielle et 11 une atrophie subtotale.

Les 35 enfants cités sur les tableaux joints en appendice à la fin de ce travail sont convoqués et réexaminés à intervalles réguliers. Jusqu'ici, nous avons pu effectuer les dosages, à plusieurs reprises pour certains, chez 29 d'entre eux.

3) Les enfants atteints d'intolérance au lait

Au nombre de 6, ils ont été examinés et suivis à peu près dans les mêmes conditions.

« L'intolérance au lait » s'exprime, pensons-nous, par deux sortes de troubles, immédiats et retardés. Les accidents immédiats rappellent le choc anaphylactique. Dans les heures et quelquefois les minutes qui suivent l'ingestion d'une quantité minime de lait, les enfants pâlissent, leur teint est grisâtre et leurs traits tirés. Ils sont couverts de sueurs. Ils vomissent, enfin apparaît une diarrhée profuse. On constate alors une stéatorrhée et une augmentation du taux des acides volatiles et lactiques.

Les accidents retardés réalisent un syndrome de malabsorption très voisin de celui de la maladie cœliaque avec diarrhée chronique, courbe d'hyperglycémie alimentaire plate et, à la radio, dilatation des anses, fragmentation et dilution de la baryte au cours du transit de l'intestin grêle. La stéatorrhée a été retrouvée chez 3 d'entre eux. Tous ces troubles ne sont pas modifiés par le régime sans gluten.

Il n'a pas été possible de prélever un fragment de muqueuse duodénale ou jéjunale au début de l'évolution en raison du jeune âge et du faible poids des malades. Cet examen a été fait ultérieurement chez 3 d'entre eux. On a observé une atrophie partielle dans les *cas n*^{os} *1* et *3* (après respectivement quatre et sept mois de régime sans lait) et la muqueuse était subnormale chez l'*enfant n*° *2* après huit mois de régime.

Pour attribuer au lait ou à une de ses protéines la responsabilité de tels accidents, deux types d'épreuve sont indispensables. En premier lieu, la suppression du lait ; en deuxième lieu, des essais de réintroduction à court terme :

a) La suppression complète du lait de vache, sous quelques formes que ce soit, entraîne une amélioration assez rapide de l'état de ces enfants. La diarrhée et les vomissements disparaissent, la courbe du poids se redresse. Le coefficient d'absorption des graisses redevient normal, c'est-à-dire supérieur à 92 % (il passe de 82 à 96 % chez notre premier malade après quatre mois de régime, de 83 à 96 % pour le deuxième en six mois).

Une nouvelle biopsie après vingt-trois mois de régime a montré une muqueuse normale chez *Pat... Sou...* (*cas n*° *1*).

b) Au cours de leur hospitalisation, des essais cliniques ont été faits avec le lait, la fraction soluble du lait et la β-lactoglobuline. A la première tentative, on a observé des accidents de choc immédiats chez les *enfants n*^{os} *1, 2* et *5*.

Mais si l'on continue à donner des quantités minimes de lait, l'état s'améliore à nouveau. Il est alors possible d'augmenter la quantité administrée sans provoquer de nouveaux troubles (*cas n*^{os} *1* et *2*), ce qui évoque une désensibilisation.

Cependant, si les accidents de type anaphylactique s'atténuent et même disparaissent, il n'en est probablement pas de même des troubles de l'absorption intestinale qui, eux, peuvent réapparaître progressivement. En effet, à plusieurs reprises, après deux ou trois semaines de régime lacté, le poids des selles et la stéatorrhée ont augmenté à nouveau, la courbe de poids s'est infléchie et les épreuves d'absorption se sont à nouveau altérées.

Ces 6 enfants n'ont jamais eu aucun autre symptôme en dehors des troubles digestifs, ni asthme, ni eczéma, ni rhinite, ni éosinophilie. Leur maladie est une intolérance digestive au lait de vache.

Chez les enfants atteints soit de maladie cœliaque, soit d'intolérance au lait de vache, les prélèvements ont été effectués à des périodes déterminées :

a) Lors de la première hospitalisation, le régime alimentaire étant jusque-là normal, autant que possible, ce prélèvement a été suivi d'un deuxième à huit jours d'intervalle pour contrôler et vérifier la stabilité du résultat. (Il faut cependant préciser que notre étude porte sur dix-huit mois, alors que la plupart des 29 malades cœliaques étudiés sont suivis dans le Service du Professeur Maurice Lamy depuis plusieurs années ; beaucoup sont donc au régime sans gluten depuis longtemps.)

b) Lors de la suppression de l'aliment considéré comme nocif dans le régime de l'enfant, qu'il s'agisse de gluten ou de lait, les prélèvements ont été faits :

— deux semaines après ;
— six semaines après ;
— trois mois après ;
— un an après.

En outre, dans les cas où cet aliment a été réintroduit, les prélèvements ont été faits :

— dans les quatre ou cinq premiers jours ;
— deux semaines après ;
— six semaines après ;
— trois mois après ;
— un an après.

(Cinq enfants présentant une intolérance ont été étudiés selon ces modalités.)

4) Le groupe des enfants atteints de diarrhée aigue, secondaire à une infection entérale

Douze enfants, de un mois à seize mois, ont été étudiés. Chez tous, la gravité de la diarrhée a nécessité un arrêt complet de l'alimentation lactée et, pour la plupart, une réhydratation par voie veineuse.

Les prélèvements ont été faits :

— pendant la période d'interruption du lait ;
— de quatre à huit jours après sa réintroduction ;

— trois semaines après ;
— et lorsque les enfants ont pu être reconvoqués ultérieurement, au-delà de six semaines après.

Quelle que soit la catégorie, à chaque prélèvement les anticorps ont été recherchés vis-à-vis de :
— la gliadine toujours ;
— le lait de vache cru écrémé, les six premiers mois de notre enquête, puis il a été remplacé par
— la caséine ;
— et la fraction des protéines solubles du lait au cours de l'année suivante ;
— enfin, vis-à-vis de la β-lactoglobuline dans la presque totalité des cas.

I. — RESULTATS CHEZ LES TEMOINS

Le premier tableau exposé ci-après (*Tableau XIX*) donne la totalité des résultats pour les témoins comportant le nom, l'âge, le diagnostic de la maladie qui a nécessité l'hospitalisation. Le régime alimentaire n'a pas été précisé, car il est normal pour tous, l'état de l'enfant n'ayant jamais nécessité ni l'interruption du lait, ni l'interruption de la farine de l'alimentation.

Les tableaux suivants exposent, pour chaque antigène, les taux d'anticorps observés selon l'âge des enfants témoins.

1) Gliadine

Il n'est trouvé d'anticorps vis-à-vis de la gliadine que chez 5 témoins sur 65, dont 3 ont entre six et douze mois, tandis que le quatrième et le cinquième ont dix-huit mois.

TABLEAU XX

	0 à 1/32	1/64 à 1/256	1/512 à 1/2048	Totaux
0 à 6 mois	14	0	0	14
6 à 12 mois	15	2	1	18
1 an à 2 ans	14	1	1	16
2 ans à 4 ans	12	0	0	12
Au-dessus de 4 ans	6	0	0	6
Totaux :	61	3	2	66

TABLEAU XIX

Anticorps recherchés chez les enfants témoins

Chiffres obtenus par la réaction d'hémagglutination passive à la benzidine

	NOMS	Age	Diagnostic	Antigènes				
				Gliadine	Lait	Fr. soluble	Caséine	β Lactoglob.
1	OUI...	15 j.	Crises convulsives	0	0			0
2	BOD...	1 m.	Staphyl. pl. pulm.	0	1/2			1/2
3	RUA...	1 m ½	Rhinophar.	1/4	0			
4	BLA...	1 m ½	Rhinophar.	1/8		1/16	1/16	1/8
5	CUE...	2 m ½	Otite	0	0			
6	PER...	3 m.	Pneumopathie	1/2		1/512	1/32	0
7	LAM...	3 m ½	Myxoedème	1/2	1/2			
8	HAC...	5 m.	Hypocalcémie	1/2	0			1/4
9	MAR...	6 m.	Hypocalcémie	1/2	1/2			
10	MAU...	6 m.	Hypotrophie	0		0	1/16	0
11	GUI...	6 m.	Crises convulsives	0	1/4			1/8
12	RUS...	6 m.	Otite	1/8	1/8			
13	STE...	6 m.	Anémie aplast.	1/8		1/2048	1/8	1/4
14	BEN...	6 m.	Rachitisme		0			1/32
15	BIN...	6 m.	Microcéphalie	0		1/512	1/8	1/4
16	CAT...	6 m ½	Crises convulsives	0		1/512	1/4	1/16
17	BOS...	7 m.	Bronchite		1/4			1/16
18	LED...	7 m.	Hyperpl. surr.	1/16				1/128
19	RAH...	7 m.	Hypotrophie	0	0			1/512
20	GUI...	7 m.	Méningite	1/2	1/2			1/256
21	HAM...	7 m.	Rachitisme	1/8	1/8			
22	DIF...	7 m.	Cirrhose	1/4		1/1024	1/64	1/32
23	ELH...	8 m.	Pneumopathie	1/128	1/64			
24	TSA...	8 m.	Rhinopharyngite	1/4		1/256	0	1/4
25	AMR...	9 m.	Rhinobronchite	1/2	1/8			1/32
26	BUH...	9 m.	Méningite	1/1024	1/8			1/4
27	DES...	9 m.	Vomissements	1/4		1/512	1/8	1/8
28	SOS...	10 m.	Hypercalcémie	1/4		1/16	1/4	0
29	VER...	10 m.	Retard psychomoteur	1/2	1/2			1/4
30	FOS...	11 m.	Anorexie	1/4		1/8	1/8	1/4
31	LEV...	11 m.	Vomissements	1/8		1/32	1/8	1/8
32	LEC...	11 m.	Hypotrophie	1/4		1/32	1/4	0

35	LEC...	13 m.	Méningite	1/4	1/4			1/4
36	OBI...	13 m.	Primoinfection	1/128		1/512	1/8	1/4
37	BON...	15 m.	Rachitisme	1/4				
38	NIK...	15 m.	Mégacolon	1/4		1/64	1/4	0
39	MAS...	17 m.	Otite	1/2	1/2			1/64
40	MOU...	18 m.	Fièvre	1/8				
41	COL...	18 m.	Rhinopharyngite	1/512	0			0
42	CHE...	18 m.	Rachitisme	1/2	1/2			
43	BAR...	18 m.	Pneumopathie	1/4	1/2			
44	BAL...	19 m.	Crises convulsives	1/32				
45	VIV...	20 m.	Hypotrophie	1/8		1/512	1/16	1/32
46	CAL...	2 a.	Rachitisme	1/16	1/16			
47	BRU...	2 a.	Hypotrophie	1/32				
48	CAR...	2 a.	Rhinopharyngite	1/4	1/2			1/8
49	REN...	2 a.	Malformation épaule	1/8	1/8			1/8
50	MAG...	2 a.	Ostéogenesis imperfecta	0		1/128	1/4	1/8
51	SIE...	2 a. 1 m.	Werdnig Hoffmann	1/4	1/4			1/16
52	LAM...	2 a. 2 m.	Otite	1/8	1/16			1/32
53	DJA...	2 a. 6 m.	Bronchite	1/8	1/4			
54	MOR...	2 a. 6 m.	Colite	1/8		1/32	1/16	1/16
55	MOU...	2 a. 6 m.	Rhinopharyngite	1/16	1/8			
56	CAM...	2 a. 6 m.	Hypotrophie	0			1/8	1/8
57	RID...	3 a.	Méningite - Asthme	1/32		1/1024	1/8	1/8
58	BER...	3 a.	Anémie hémolytique	1/4	1/4			
59	URI...	3 a. 6 m.	Mongolisme	1/2	1/2			
60	BRU...	3 a. 9 m.	Anorexie	1/4	1/2			1/2
61	GAR...	4 a.	Pneumopathie	1/4	1/4			
62	LUM...	4 a.	R.A.A.	0				
63	FIC...	4 a. 6 m.	Résection du grêle	1/8		1/8	1/8	1/4
64	NER...	4 a. 6 m.	R.A.A.	0		0	0	0
65	CHA...	4 a. 6 m.	Encéphalopathie	1/8				
66	BAZ...	7 a.	Témoin sain	1/8		1/8	1/8	1/8
67	REN...	12 a.	Rectocolite hémorr.	1/8		1/64	1/16	1/8
68	MAS...	13 a.	Rectocolite hémorr.	1/2		1/8	0	1/4
TOTAUX = 68				66	36	25	26	44

Les *enfants n*^{os} *23, 26, 33, 36, 41,* chez qui on a décelé des A.C. à la gliadine au premier examen, ont été reconvoqués. Seuls deux ont été revus et un nouveau dosage a donné :

TABLEAU XXI

	Gliadine	Lait de vache	Caséine	Fraction soluble	Bêta lacto-globuline
COL... (N° 41)					
- 12.2.64 (18 mois)	1/512	0			0
- 21.5.64 (21 mois)	1/4 (0)				
MAI... (N° 33)					
- 25.2.64 (11 mois)	1/256			1/32	1/4
- 16.6.64 (14 mois)	1/128 (0)		1/8	1/16	1/4

— Pour le premier, hospitalisé en février 1964 pour une rhino-pharyngite, il est possible que le taux élevé d'anticorps soit un phénomène passager.

— Par contre, pour le second, la similitude du taux des A.C. constatés aux deux examens, non seulement dans le taux des anticorps à la gliadine mais aussi dans ceux des anticorps à la fraction soluble et à la β-lactoglobuine, permettent d'écarter toute erreur de dosage. Et pourtant l'enfant hospitalisé pour une bronchite asthmatiforme en février 1964, ne montrait ni en février, ni en mai 1964, aucun signe clinique de malabsorption intestinale.

2) Lait de vache entier

Le taux des anticorps est toujours très bas, 31 fois inférieur à 1/16^{e} chez 35 témoins, 2 fois à 1/16^{e}, 1 fois 1/32^{e} et 1 fois 1/64^{e}. Les taux étaient également faibles dans les groupes des malades de notre étude.

TABLEAU XXII

	0 à 1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
0 à 6 mois	10	0	0	10
6 à 12 mois	9	1	0	10
12 à 24 mois	8	0	0	8
2 à 4 ans	8	0	0	8
Au-dessus de 4 ans	-	-	-	-
Totaux :	35	1	0	36

3) Fraction soluble des protéines du lait de vache

La présence d'anticorps vis-à-vis de cet antigène est très fréquente chez les nourrissons entre trois et dix-huit mois.

TABLEAU XXIII

Fraction soluble	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
0 à 6 mois	2	0	3	5
6 à 12 mois	5	1	3	9
12 à 24 mois	0	2	2	4
2 à 4 ans	1	0	1	2
Au-dessus de 4 ans	4	1	0	5
Totaux :	12	4	9	25

4) Bêta-lactoglobuline

Les anticorps à la β-lactoglobuline sont par contre très rarement observés chez les enfants témoins et il est intéressant de remarquer que les quelques cas positifs sont tous groupés aux mêmes âges, exactement dans les mêmes catégories que ceux qui ont des anticorps à la gliadine, c'est-à-dire entre sept et dix-huit mois (cf. *Tableau XIX*).

TABLEAU XXIV

β Lactoglobuline	Négatifs 0-1/32	Moyens 1/64-1/256	Forts 1/512-1/2048	Totaux
0 à 6 mois	10	0	0	10
6 à 12 mois	13	2	1	16
1 à 2 ans	8	1	0	9
2 à 4 ans	6	0	0	6
Au-dessus de 4 ans	5	0	0	5
Totaux :	42	3	1	46

5) Caséine

Les anticorps à la caséine sont toujours à un taux bas chez les témoins, inférieur à 1/64^{e}, sauf une seule exception positive à 1/64^{e},

mais comme nous le verrons, même chez les malades intolérants au lait de vache, le taux d'anticorps circulant reste toujours modéré, ne dépassant jamais 1/128e.

TABLEAU XXV

Caséine	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
0 à 6 mois	5	0	0	5
6 à 12 mois	8	1	0	9
1 à 2 ans	4	0	0	4
2 à 4 ans	3	0	0	3
Au-dessus de 4 ans	5	0	0	5
Totaux :	25	1	0	26

Pour les 5 antigènes, c'est essentiellement dans la tranche d'âge six à douze mois qu'on observe les titres positifs chez les témoins.

II. — RESULTATS DES DOSAGES POUR LES MALADIES CŒLIAQUES

Nous avons groupé dans trois tableaux les résultats des dosages d'anticorps antigliadine qui ont été effectués chez 29 des 35 enfants atteints de maladie cœliaque, en les regroupant à trois stades de leur évolution clinique :

a) Lors de la première observation avec régime normal, c'est-à-dire non privé de gluten jusque-là.

b) Après une phase plus ou moins longue (entre deux mois et quatre ans et demi) de régime sans gluten.

c) Lors d'une période de réintroduction du gluten succédant à une longue phase de régime.

Sur chaque tableau sont notés les résultats des épreuves de contrôle biologiques, radiologiques et histologiques.

D'après ces critères d'évolution, on peut se faire une idée assez exacte de l'état des enfants lors des prélèvements pour le dosage des anticorps. *Ces trois tableaux dépliants sont joints en appendice à la fin de ce volume.*

1) Le *Tableau XXVI* rassemble tous les résultats des dosages d'anticorps vis-à-vis de la gliadine et des protéines du lait, selon le régime.

2) Les résultats des dosages d'anticorps sont consignés dans les tableaux suivants par comparaison entre les maladies cœliaques et les témoins, mais en distinguant pour les malades trois groupes selon le régime : avec gluten, sans gluten depuis un délai de moins de trois mois, sans gluten depuis plus de trois mois.

Pour tous les sujets, il s'agit uniquement de premier dosage quel que soit le stade de la maladie et quel que soit le régime.

TABLEAU XXVII : Anticorps contre la gliadine

	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
Malades avec gluten	5	4	4	13
Malades sans gluten depuis moins de 3 mois	1	-	-	1
Malades sans gluten depuis plus de 3 mois	8	7	-	15
Total des maladies coeliaques	14	11	4	29
Témoins	61	3	2	66

3) Six malades cœliaques ont été suivis à intervalles réguliers par des dosages après suppression du gluten de leur alimentation.

TABLEAU XXVIII : Suppression du gluten

	Avec gluten	Suppression du gluten			
		2 semaines	6 semaines	3 mois	6 mois
28. DEP. C	1/256	1/1024* (0)	1/256 (0)		1/6
30. MOR. E	1/4	1/16		1/128 (0)	
31. ZAL. F	1/2048 (0)	1/256 (1/4)	1/16 (0)	supérieur 1/2048 (0)	
32. FOU. S	1/2048 (0)	1/2048 (0)	1/512	1/4 (0)	
34. LAR. S	1/8	1/64	1/16 (0)		
35. BEN. C	1/2	1/4	1/8	0	

(*) Le chiffre entre parenthèses est celui qui est obtenu après épreuve d'épuisement.

TABLEAU XXVI

		Age au premier examen (ans/mois)	Tx AC au 1er examen (c'est à dire avec gluten)				AC période sans gluten				AC période réintrod. gluten			
			Gliad.	F.sol.	Caséine	β Lacto	Gliad.	F.sol.	Caséine	β Lacto	Gliad.	F.sol.	Caséine	β Lacto
1.	CAS. Pat.	0/8 ½												
2.	GAR. Etienne	2/3					1/128							
3.	HAU. Pat.	0/4												
4.	BAL. Lau.	1/0					1/8 (0)	1/4	0	0				
5.	GUI. Nat.	1/3												
6.	BEL. Cath.	1/4					1/256	1/256	1/16	1/32				
7.	COT. Mart.	0/7 ½												
8.	COL. Ch.	1/5 ½					1/256							
9.	PAR. Isa.	1/5					1/8 (0)	1/32	1/8	1/16				
10.	GUE. Mich.	1/10												
11.	DEB. Ann.	0/9									1/16	1/1024	1/8	1/64
12.	MES. Pat.	1/6									1/512 (1/4)			
13.	SAL. Alex.	1/4 ½									1/64 (0)			
14.	LOY. Ann.	0/9									1/1024 (0)			1/4
15.	GER. Cec.	0/10									1/16 (0)			
16.	ZYL. Cath.	0/7 ½									1/256			1/32
17.	MER. Léa	3/5												
18.	MAN. Cla.	0/9 ½					1/64 (1/16)							
18 bis	MAN. Don.	4/2					1/128 (1/8)							
19.	SEG. Alain	0/7					1/8							
20.	LON. Mur.	0/10					1/16	1/128	1/32	1/64				
21.	BRA. Chr.	0/7 ½					1/8	1/256	1/16	1/16				
22.	CHA. J.M.	1/11					1/256		1/64					
23.	CAM. Ani.	1/4					0 (0)							
24.	TKA. J.L.	7/3					1/16 (1/16)	1/24	1/8	1/16				
25.	AND. Michel	9/8 ½					1/32 (0)		1/16					
26.	GAY. Lam.	2/4 ½					1/256 (1/8)							
27.	DAN. Jac.	7/6												
28.	DEL. Cath.	0/7	1/256			1/32	1/256	1/512		1/8				
29.	MAF. Vir.	2/0	1/256 (1/8)											
30.	MOR. Edo.	17/4	1/4 (0)				1/128 (0)	1/128		1/32				
31.	ZAL. Fab.	1/11 ½	1/2048 (0)	1/2048 (0)	1/8	1/16	1/256 (1/4)	1/2048	1/4	1/16				
32.	CHA. Nath.	0/10 ½					1/8 (0)	1/1024	1/8	1/512				
33.	FOU. Mar.	7/6 ½	1/2048 (0)	1/512	1/16	1/32	1/512 (0)	1/128 (1/8)	1/8	1/64				
34.	LAR. Syl.	7/1	1/8	1/128	1/8	1/16	1/16	1/256	1/8	1/32				
35.	BEN. Cam.	6/9 ½	1/2	1/512	1/4	1/2	(0)	1/8 (0)	0	0				

4) Dans les tableaux suivants, nous avons groupé tous les résultats des dosages d'anticorps faits chez les cœliaques vis-à-vis des protéines du lait, toujours par rapport aux témoins (*Tableaux XXIX* et *XXX*).

TABLEAU XXIX

Caséine	0-1/32	1/64-1/256	1/512-plus 1/2048	Totaux
Malades avec gluten	6	-	-	6
Malades sans gluten (depuis moins de 3 mois)	2	-	-	2
Malades sans gluten (depuis plus de 3 mois)	6	1	-	7
Total des maladies coeliaques	14	1	-	15
Témoins	24	1	-	25

TABLEAU XXX

Fraction soluble	0-1/32	1/64-1/256	1/512-plus 1/2048	Totaux
Malades avec gluten	-	2	3	5
Malades sans gluten (depuis moins de 3 mois)	-	1	2	3
Malades sans gluten (depuis plus de 3 mois)	3	1	3	7
Total des maladies coeliaques	3	4	8	15
Témoins	12	4	9	25

TABLEAU XXXI

Bêta Lactoglobuline	0-1/32	1/64-1/256	1/512-plus 1/2048	Totaux
Malades avec gluten	7	-	-	7
Malades sans gluten (depuis moins de 3 mois)	2	1	1	4
Malades sans gluten (depuis plus de 3 mois)	6	3	1	10
Total des maladies coeliaques	15	4	2	21
Témoins	42	3	1	46

5) Prélèvements effectués systématiquement en double, à huit ou quinze jours d'intervalle, sans modification de régime, par rapport à un groupe de témoins également prélevés en double.

TABLEAU XXXII

Maladies coeliaques	Gliadine	Caséine	Fraction soluble	Bêta Lactoglobuline
29. MAF. V.				
- 30.6.64	1/256 (1/8)			
- 6.7.64	1/80			
30. MOR. E.				
- 6.7.64	1/4 (0)			
- 18.7.64	1/16	1/8	1/512	1/16
31. ZAL. F.				
- 16.11.64	1/2048 (0)	1/8	1/2048 (0)	1/16
- 4.12.64	1/256 (1/4)	1/4	1/2048	1/16
32. FOU. M.				
- 24.10.64	1/2048 (0)	1/16	1/512	1/32
7.11.64	1/2048 (0)	1/32	1/1024	1/128
TEMOINS				
BLA. 1 mois ½				
- 10.2.65	1/8	1/16	1/16	1/8
- 17.2.65	1/2	1/8	1/16	0
PER. 3 mois				
- 27.1.65	1/2	1/32	1/512	0
- 2.2.65	1/4	1/4	1/256	0
SOS. 11 mois				
- 25.1.65	1/4	1/4	1/16	0
- 2.2.65	0	1/2	0	0
LEC. 11 mois				
- 30.5.64	1/4	1/4	1/32	0
- 10.6.64	0	0	1/16	0
GAR. 22 mois				
- 18.2.65	1/2	1/8	1/32	0
- 23.2.65	1/2	1/2	1/8	0
FIC. 4 ans ½				
- 22.1.65	1/8	1/8	1/16	1/16
- 28.1.65	1/8	1/4	1/8	1/8

6) Evolution des anticorps aux protéines du lait sous l'effet du régime sans gluten chez les enfants atteints de maladie cœliaque.

TABLEAU XXXIII

	Avec gluten	Sans gluten			
		2 semaines	6 semaines	3 mois	6 mois
BEP. C. (N° 28)					
F.sol.					1/512
Bêta Lacto.	1/32	1/256			1/8
MOR. E. (N° 30)					
F.sol.		1/512		1/128	
Bêta Lacto.		1/16		1/32	
ZAL. F. (N° 31)					
F.sol.	1/2048	plus de 1/2048	plus de 1/2048	plus de 1/2048	
Bêta Lacto.	1/16	1/16	1/32	1/16	
FOU. S. (N° 33)					
F.sol.	1/512	1/1024	1/128	1/64	
Bêta Lacto.	1/32	1/128	1/64	1/16	
LAR. S. (N° 34)					
F.sol.	1/128	1/256	1/256	1/32	
Bêta Lacto.	1/16	1/128	1/32	1/16	
BEN. M. (N° 35)					
F.sol.	1/512	1/32	1/32	1/8	
Bêta Lacto.	1/2	1/8	1/32	0	

III. — INTOLERANCES AU LAIT DE VACHE

Résultats

Dans un premier tableau, nous avons groupé tous les résultats des dosages chez ces 6 enfants, en précisant à chaque fois le régime alimentaire.

Parmi eux, 4 ont été suivis pendant longtemps ; les deux derniers, par contre, d'observation beaucoup plus récente, n'ont pu encore être suivis que pendant quelques semaines (*enfant Bau...* et *Tis...*). Voir le *Tableau B* en appendice.

Les *Tableaux XXXIV* à *XXXVII* donnent les résultats, pour chaque antigène, des tests effectués par comparaison entre intolérances au lait, maladies cœliaques et témoins, en ne considérant, dans chaque groupe, que le premier prélèvement pratiqué à un moment où l'enfant avait du lait dans son régime.

Le titre des anticorps à la fraction soluble est toujours très élevé chez les intolérants : supérieur ou égal à 1/512^{e} ; mais, comme nous l'avons vu, d'assez nombreux témoins ont également un taux très élevé en l'absence de toute intolérance clinique.

TABLEAU XXXIV

Caséine	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
Intolérance au lait de vache	3	3	0	6
Maladies coeliaques	14	1	0	15
Témoins	24	1	0	25

TABLEAU XXXV

Fraction soluble	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
Intolérance au lait de vache	0	0	6	6
Maladies coeliaques	3	4	8	15
Témoins	12	4	9	25

TABLEAU XXXVI

Bêta Lactoglobuline	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
Intolérance au lait de vache	0	2	4	6
Maladies coeliaques	15	4	2	21
Témoins	42	3	1	46

L'élévation du titre des anticorps à la β-lactoglobuline est beaucoup plus exceptionnelle chez les sujets normaux, mais constante chez les enfants intolérants au lait de vache.

TABLEAU XXXVII

Gliadine	0-1/32	1/64-1/256	1/512-1/2048	Totaux
Intolérance au lait de vache	6	0	0	6
Maladies coeliaques	14	11	4	29
Témoins	61	3	2	66

Jamais il n'a été décelé d'anticorps à la gliadine chez les enfants intolérants au lait.

Dans le *Tableau XXXVIII*, les titres d'anticorps ont été regroupés selon les dates auxquelles ils ont été dosés après suppression du lait.

TABLEAU XXXVIII

Après suppression du lait de l'alimentation

	Avant	15 jours	3 semaines	6 semaines	3 mois	plus de 3 mois
1. SOU...						
Caséine						
F.sol.						
Bêta lac.						1/128
2. SAA...						
Caséine		1/64				
F.sol.						
Bêta lac.	1/512(1/4)	plus de 1/1024				
3. LEF...						
Caséine						1/16
F.sol.				1/1024		1/64 (0)
Bêta lac.		plus de 1/1024(1/8)		1/1024		1/4 (0)
4. HYP...						
Caséine	1/64	1/16		1/8	1/16	1/16
F.sol.	1/512(1/16)	1/2048(1/8)		plus de 1/4096	1/2048 (0)	1/1024 (0)
Bêta lac.	1/128(1/4)	1/256 (0)		1/512 (0)	1/256 (0)	1/8 (0)
5. BAU...						
Caséine			1/8	1/4		
F.sol.			plus de 1/2048 (0)	1/16 (0)		
Bêta lac.			1/64 (0)	1/4 (0)		
6. TIS...						
Caséine	1/8					
F.sol.	1/512					
Bêta lac.	1/256(1/4)					

TABLEAU XXXIX

Taux des anticorps après réintroduction du lait de vache

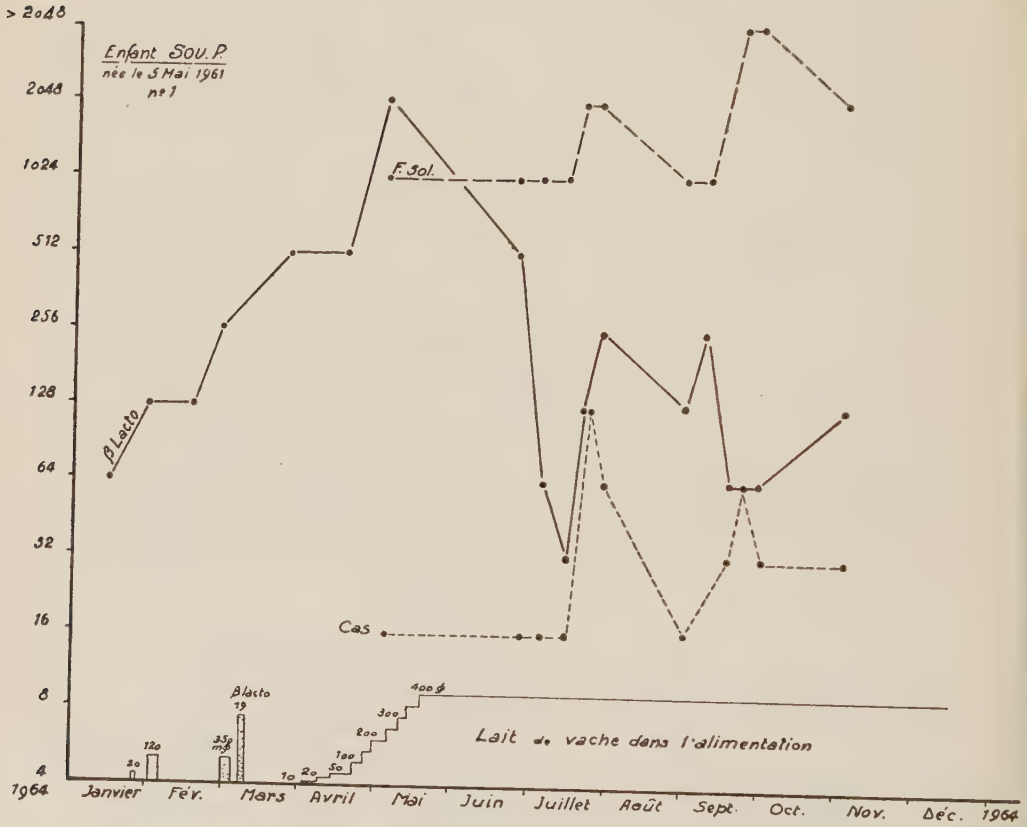
	Avant	2 à 3 j.	15 j.	3 sem.	6 sem.	3 mois
1. SOU...						
Caséine						1/16
F.sol.						1/2048
Bêta lac.	1/128 (0)	1/128	1/128 (0)	1/256	1/512 (1/4)	1/2048 (1/4)
2. SAA...						
Caséine						
F.sol.						
Bêta lac.	1/2048 (1/8)		1/1024 (1/8)	1/512 (1/4)	1/1024 (1/16)	
3. LEF...						
Caséine						
F.sol.						
Bêta lac.	1/128		1/512 (0)		1/2048 (0)	
4. HYP...						
Caséine			1/2		1/16	1/64
F.sol.					1/256	1/2048
Bêta lac.	1/128 (0)	1/64 (0)	1/1024 (0)		1/64 (0)	plus 1/1024
5. BAU...		5 j.après R				
Caséine	1/4	1/16	1/32			
F.sol.	1/16	1/64 (0)	1/32			
Bêta lac.	1/4	1/64	1/32			

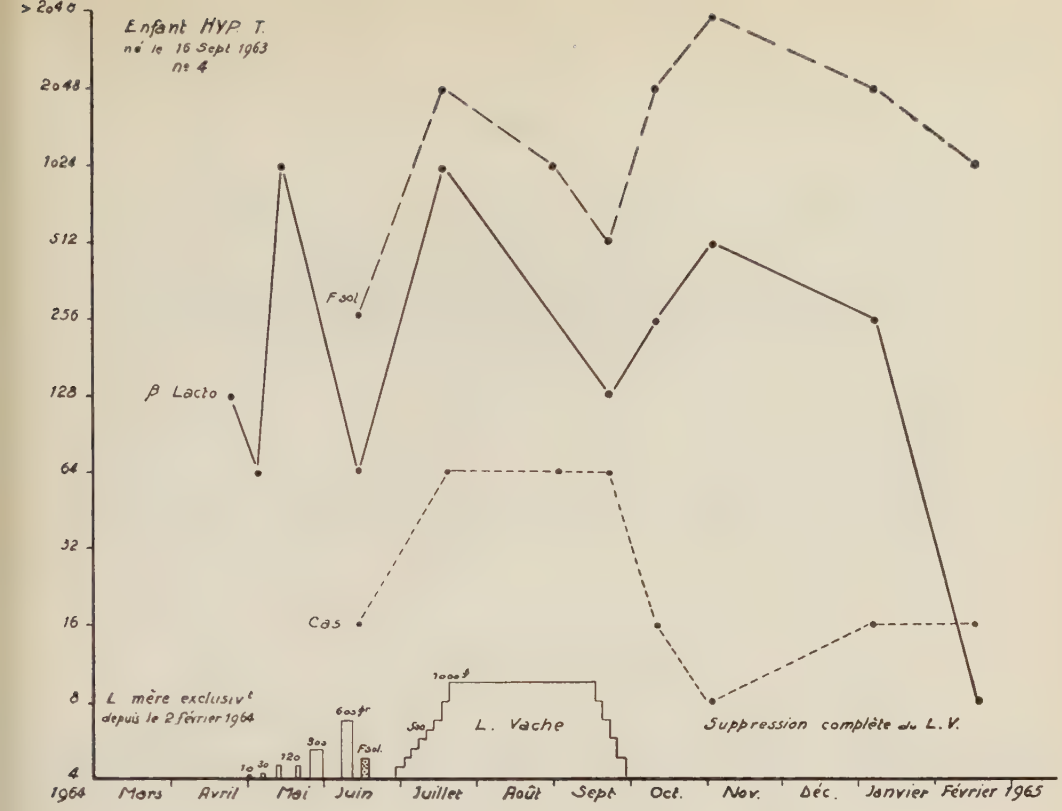
(*) Le chiffre entre parenthèses est celui qui est obtenu après épreuve d'épuisement.

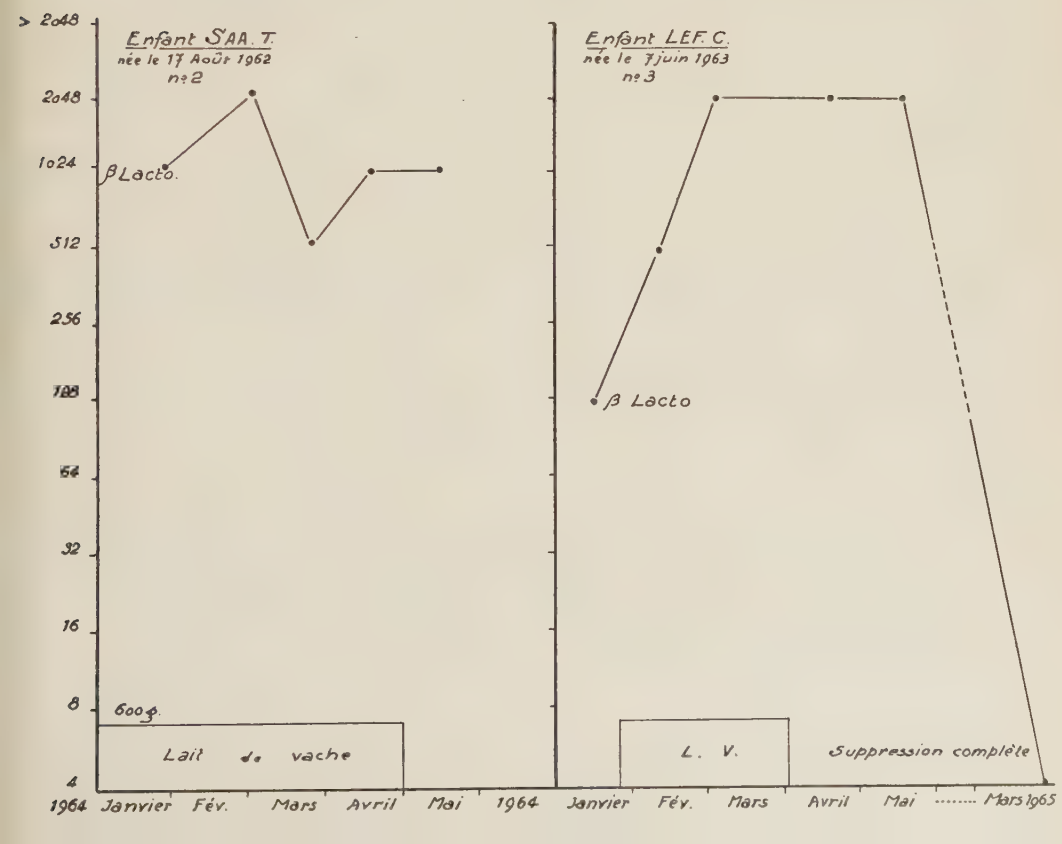
Les graphiques suivants retracent l'évolution des anticorps aux protéines du lait au cours de la période d'observation à l'hôpital de l'enfant *Pat... Sou...* tout au long de l'année 1964, et de l'enfant *T... Hyp...* de mars 1964 à février 1965.

Les modifications du régime alimentaire sont précisées.

Nous avons figuré de la même façon les titres des dosages des anticorps à la β-lactoglobuline chez deux autres malades intolérants au lait.




Enfant HYP T.
né le 16 Sept 1963
n° 4
> 2048
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
F sol.
β Lacto
Cas
L mère exclusiv.t
depuis le 2 février 1964
10
30
120
300
600 gr
1000 g
500
L. Vache
F sol.
Suppression complète du L.V.
1964
Mars
Avril
Mai
Juin
Juillet
Août
Sept
Oct.
Nov.
Déc.
Janvier
Février 1965


Enfant SAA. T.
née le 17 Août 1962
n° 2
Enfant LEF. C.
née le 7 juin 1963
n° 3
> 2048
2048
1024
512
256
128
64
32
16
8
4
β Lacto.
β Lacto
600 g.
Lait de vache
L. V.
Suppression complète
1964
Janvier
Fév.
Mars
Avril
Mai
1964
Janvier
Fév.
Mars
Avril
Mai
Mars 1965

IV. — RESULTATS DES DOSAGES EFFECTUES CHEZ LES ENFANTS CONVALESCENTS DE GASTRO-ENTERITE AIGUE

Tous les résultats sont exposés dans un tableau unique (*Tableau XL*).

Les 13 enfants ont tous eu une gastro-entérite aiguë grave ayant nécessité l'interruption complète du lait pendant trois à cinq jours.

TABLEAU XL

Résultats des dosages d'anticorps
chez les enfants convalescents de gastroentérite aiguë sévère

NOMS	Age	Diagnostic	1er prélèvement (pendant la suppression du lait)				2ème prélèvement (de 5 à 8 jours après la réintroduction du lait)				3ème prélèvement (3 semaines ou plus après réintroduction du lait)			
			Gliad.	F.sol.	Cas.	∫ Lacto	Gliad.	F.sol.	Cas.	∫ Lacto	Gliad.	F.sol.	Cas.	∫ Lacto
1. ACH..	1 m ½	Diarrhée aiguë		0		1/32	0	0	0	1/16				
2. THU..	2 m	"	0	0		1/8	0	1/16	0	1/4				
3. GON..	2 m	"	0	1/4	0	0	0	0	0	0				
4. REN..	3 m	"	0	1/16	1/8	0	1/2	1/8	0	1/2	0	1/16	1/32	1/8
5. DEB..	3 m	"	0	0		1/32	1/4			1/4	1/8		1/8	
6. ROG..	3 m	"	1/4	1/16	1/4	1/4	1/4	1/64	1/4	1/8	1/4	1/16	1/8	1/8
7. LER..	3 m ½	"	1/16			1/16	0			1/256	1/4	1/512	0	1/16
8. CHE..	3 m ½	"	0			1/256	0			1/64				
9. BRA..	3 m ½	"	0	1/32	0	0	0	1/64	1/2	1/8				
10. TRI..	4 m	"	0	1/32	0	0	0	1/64	1/4	1/8		1/64	1/8	1/16
11. KOS..	5 m	"	1/8	1/32	1/8	1/8	0	1/128	1/8	1/8	1/4	1/128	1/16	1/8
12. KRO..	5 m	"	0	1/64	1/8	1/4	0	1/512	1/16	1/8				
13. MET..	6 m ½	"	0			1/512	1/4	1/1024	1/16	1/8				

Le titre des anticorps à la gliadine est toujours très bas et ne se modifie pas aux deuxième et troisième prélèvements.

Il n'a jamais été constaté à aucun moment de l'évolution de taux élevé d'anticorps à la caséine.

A part le *cas n° 12* qui lui-même n'a qu'un taux modéré à 1/64e, aucun enfant n'a d'anticorps à un taux significatif à la fraction soluble au moment du premier prélèvement. Le taux est régulièrement élevé au moment du deuxième prélèvement à partir de l'*enfant n° 6* et, d'autre part, il est d'autant plus élevé que l'enfant est plus grand. Lorsqu'il a pu être redosé ultérieurement, il reste identique (*enfants nos 10* et *11*). Il faut comparer ce tableau avec celui des témoins (*Tableau XIX*). Entre trois et neuf mois; on trouve presque toujours un titre élevé d'anticorps à la fraction soluble.

Nous avons constaté chez 3 enfants des taux élevés d'anticorps à la β-lactoglobuline (*enfants nos 8* et *13*) lors du premier prélèvement, *enfant n° 7* au deuxième. Pour les trois, le taux était redevenu normal à l'examen suivant.

Enfin, les chiffres obtenus en utilisant la caséine comme antigène sont toujours bas.

Ces résultats, dans l'ensemble, confirment tout à fait ce que l'on observe chez les témoins : chez les nourrissons de six ou sept mois, on observe parfois une élévation du taux des anticorps à la β-lactoglobuline, mais elle est transitoire.

Par ailleurs, les titres élevés d'anticorps à la fraction soluble sont fréquents à cet âge. Le seul fait particulier est l'élévation du taux entre le premier et le deuxième prélèvements.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

Les résultats que nous avons obtenus et qui confirment les constatations faites par d'autres auteurs, font apparaître des différences très marquées entre les différents groupes et soulignent l'importance de l'étude immunologique pour le diagnostic des intolérances alimentaires et pour la compréhension de leur pathogénie.

Cette valeur est démontrée par la différence entre les résultats observés chez les témoins qui sont presque toujours négatifs avec la gliadine et la β-lactoglobuline, tandis qu'ils sont très souvent positifs chez les malades et qu'il y a concordance constante entre les résultats de l'étude immunologique et ce que l'on en attendait d'après la clinique et les investigations biologiques.

Au surplus, il est démontré que le taux des anticorps varie en fonction du régime, s'abaissant jusqu'à disparaître si l'aliment nocif est retiré du régime, remontant dans le cas contraire.

Un certain nombre de questions demeurent posées qui doivent être examinées avant que l'on puisse conclure. Nous verrons, au cours de cette discussion, que bien des éléments de réponse nous manquent encore, notamment sur la signification des résultats positifs observés chez des témoins indemnes de toute affection digestive.

I. — LES TEMOINS

Plusieurs problèmes se posent à propos des résultats chez les témoins :

— celui des anticorps au lait et à la caséine ;

— surtout celui des résultats positifs observés à la gliadine et à la β-lactoglobuline.

1) On trouve souvent un titre élevé d'anticorps à la fraction soluble du lait et très rarement des anticorps aux autres antigènes. Parmi ces derniers s'opposent, d'une part le lait complet et la caséine vis-à-vis desquels on trouve toujours un taux nul ou peu élevé d'anticorps quel que soit le sujet examiné ; d'autre part, la gliadine et la β-lactoglobuline dont les résultats doivent être interprétés par rapport à ceux qui ont été obtenus chez les malades.

- *Proportion des taux d'anticorps à la fraction soluble du lait :*

Ces anticorps sont retrouvés dans 50 % environ des cas étudiés.

Négatifs	Positifs		Totaux
	Moyens	Forts	
12	4	9	25

La proportion des résultats positifs est la plus forte chez les enfants âgés de trois à neuf mois, âge où la part du lait est prépondérante dans l'alimentation (7 cas positifs contre 1 négatif) (cf. *Tableau XIX*). Ces constatations confirment celles qui ont été faites par d'autres auteurs et que nous avons rappelées au premier chapitre.

- *Anticorps au lait et à la caséine :*

Les taux d'anticorps au lait écrémé sont toujours très bas, 34 cas négatifs contre un seul positif au 1/64e.

Nous retrouvons exactement la même proportion pour les anticorps à la caséine, un seul témoin a atteint un taux de 1/64e. Cet enfant (*H... Dif..., cas n° 22*), âgé de sept mois, avait un taux d'anticorps à la fraction soluble de 1/1.024e.

Il peut paraître paradoxal que les anticorps au lait complet soient à un taux très bas, alors que les anticorps aux protéines solubles sont élevés. Le parallélisme des résultats observés avec la caséine et avec le lait suggère que la caséine fausse les résultats de la réaction d'hémagglutination. En effet, la valeur antigénique des différentes protéines du lait est très inégale. La caséine, par exemple, ne provoque que peu d'anticorps chez les animaux sensibilisés. Or, cette protéine, ou plutôt ce groupe de protéine, de poids moléculaire élevé, constitue près de 80 % des protéines du lait. Lorsqu'on met en présence, au cours de la réaction d'hémagglutination, de la benzidine,

des globules rouges et du lait complet, les molécules de benzidine, très avides de protéines, sont rapidement saturées par les molécules des protéines les plus abondantes.

Il n'y a pas de fixation préférentielle de la benzidine qui lie aux hématies les protéines proportionnellement à leur quantité. 80 % des hématies sont donc marquées à la caséine et seulement 20 % aux autres protéines.

- *Anticorps à la gliadine et à la β-lactoglobuline chez les témoins :*

Pourcentage des anticorps à la gliadine

Négatifs	Positifs		Totaux
	Moyens	Forts	
61 (92,4 %)	3 (4,5 %)	2 (3,1 %)	66 (100 %)

Pourcentage des anticorps à la β-lactoglobuline

Négatifs	Positifs		Totaux
	Moyens	Forts	
42 (91,2 %)	3 (6,6 %)	1 (2,2 %)	45 (100 %)

Les résultats obtenus avec la gliadine d'une part et avec la β-lactoglobuline d'autre part, sont superposables et confirment ceux de la littérature.

Le pourcentage des résultats positifs est inférieur à 10 % et des titres très élevés sont retrouvés dans moins de 5 % des cas.

Ces résultats, qui contrastent avec ceux obtenus chez les malades, soulignent la valeur de l'examen immunologique pour le diagnostic. Nous y reviendrons.

Il reste à expliquer pourquoi certains enfants apparemment indemnes de toute affection digestive développent un taux élevé d'anticorps. Pour conclure, il aurait fallu que nous puissions étudier la stabilité des réactions à des examens successifs et surtout que nous puissions effectuer un examen approfondi de l'absorption intestinale chez chacun de ces sujets. Un tel programme n'a pu être réalisé.

2) Quelle est la signification des résultats positifs vis-à-vis de la gliadine et de la β-lactoglobuline chez les témoins ?

Nous considérerons simultanément les deux groupes de sujets positifs, mais rien ne nous permet d'affirmer jusqu'ici que la production des deux types différents d'anticorps relève du même mécanisme. Une explication valable pour l'un ne l'est peut-être pas pour l'autre. Précisons d'ailleurs, à ce propos, que ce ne sont pas les mêmes sujets qui sont à la fois porteurs d'anticorps à la gliadine et d'anticorps à la β-lactoglobuline.

Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées :

La première est celle d'une intolérance infra-clinique. On sait, en effet, que la traduction clinique de l'intolérance n'est pas constante. Si certains enfants sont gravement malades, d'autres n'ont que des troubles peu importants. L'apparition retardée des manifestations cliniques jusqu'à la deuxième enfance et parfois même jusqu'à l'âge adulte, les observations qui ont été faites chez nos malades lors de la réintroduction de l'aliment nocif, c'est-à-dire tolérance clinique mais réapparition des altérations histologiques, la découverte de lésions anatomiques chez des parents et collatéraux de malade (Mac Donald, Dobbins et Rubin [31]), tout ceci plaide en faveur de cette intolérance « infra-clinique » dont les anticorps pourraient être une autre manifestation.

Il demeure cependant possible que la constatation de quelques résultats positifs chez les témoins ne soit que l'exagération — l'extrémité de la distribution — d'un phénomène normal, puisque le passage des protéines non dégradées à travers la muqueuse intestinale est constant. L'étude des anticorps, de leur nature chimique et de leurs différences éventuelles chez les sujets intolérants et chez les sujets normaux aurait, à cet égard, un très grand intérêt.

Mais l'allergie infra-clinique comporte une autre éventualité : celle de la présence d'anticorps dans le sang circulant, sans qu'il y ait même de lésions anatomiques. Ce n'est qu'à l'occasion d'une altération d'un tissu particulièrement riche en gluten (ou en protéines du lait), comme la muqueuse de l'intestin grêle, que l'anticorps pourrait se fixer sur l'antigène et entraîner l'apparition de lésions caractéristiques de la maladie. Cette hypothèse tend à conférer un rôle pathogène primordial au complexe antigène-anticorps, problème très important sur lequel nous reviendrons.

On peut évoquer à cet égard un phénomène voisin de celui des pollinoses infra-cliniques par exemple, qui sont parfois observées chez l'enfant. Des sujets porteurs d'anticorps, décelés par un dosage systématique chez les membres de la famille d'un individu allergique,

peuvent brusquement présenter tous les symptômes respiratoires habituels de l'allergie pollinique à la suite d'une intervention bénigne sur les voies aériennes supérieures (rectification d'une déviation de la cloison nasale par exemple).

II. — LES MALADES

Tout d'abord, rappelons que le diagnostic de l'intolérance a été posé chez les enfants, chaque fois sur des constatations cliniques, histologiques et biologiques, mais toujours indépendamment de l'étude immunologique.

En contraste avec ce qui est noté chez les témoins, la proportion des taux élevés d'anticorps est forte chez les malades :

a) Anticorps vis-à-vis de la gliadine pour les maladies cœliaques.

b) Anticorps vis-à-vis de la β-lactoglobuline pour les intolérances au lait de vache.

La signification de ces résultats nous paraît établie sur les arguments suivants, outre la différence de proportion des résultats positifs :

— l'évolution du taux des anticorps en fonction du régime ;
— la corrélation entre le taux des anticorps et les autres signes cliniques et biologiques ;
— la spécificité — c'est essentiellement contre l'antigène, jugé responsable sur des arguments cliniques et anatomiques que les anticorps ont été décelés dans chaque cas. Une augmentation concomitante d'autres anticorps a pu être observée. Elle paraît plus contingente et nous la discuterons ultérieurement.

A) Anticorps à la gliadine chez les cœliaques

1) Résultats d'ensemble

Si nous considérons nos résultats globaux, nous voyons que plus de 50 % des malades ont des anticorps contre la gliadine.

La proportion est de 8 sur 13 chez les enfants pour qui nous avons pu faire le dosage, alors qu'ils étaient à un régime normal comprenant de la farine. C'est uniquement dans ce groupe qu'on trouve les taux les plus élevés supérieurs à 1/256^{e} : *enfants n^{os} 31* et *33* parmi ceux étudiés à la première hospitalisation ; *enfants n^{os} 12* et *14* parmi ceux qui ont été examinés lors d'une période de réintroduction du gluten dans leur régime (voir *Tableaux XXVI* et *XXVII*).

2) Evolution en fonction du régime

Elle a pu être suivie régulièrement chez 6 enfants hospitalisés et soumis à un contrôle rigoureux. Dans ces conditions, on observe une chute progressive des anticorps dont le taux est inférieur à 1/64e vers le troisième mois de régime ou un peu plus tard (*Dep..., cas n° 28 ; Fou..., cas n° 32 ; Lar..., cas n° 34*) (cf. *Tableau XXVIII*).

Une exception, l'*enfant Zal...* (*cas n° 31*) dont le taux d'anticorps après une chute à 1/16e au bout de six semaines de régime est remonté à 1/2.048e au bout de trois mois. Il ne semble pas y avoir eu d' « entorse » au régime. Il faut préciser cependant que la spécificité des anticorps n'est pas aussi absolue qu'on le croit habituellement. Des réactions croisées sont possibles avec des protéines d'origine végétale, voisines des protéines du blé, contenues dans d'autres céréales, par exemple les protéines du riz, dont la présence dans l'alimentation peut parfois entraîner une nouvelle élévation du taux des anticorps.

Le groupe des enfants soumis à un régime sans gluten mais rendus à leurs familles, doit être apprécié de façon un peu différente puisque nous n'avons pas la certitude que le régime est bien suivi.

La comparaison de ces résultats positifs avec les autres éléments d'étude de ces enfants exposés dans les tableaux joints en appendice (*Tableau* AII), ne montre pas de corrélation évidente ni avec les épreuves biologiques, ni avec l'état de la muqueuse, ni avec la durée du régime.

Nous admettons sur les résultats de notre expérience que la réintroduction du gluten entraîne toujours la réapparition des lésions de la muqueuse. En principe, on ne devrait pas retrouver d'anticorps chez des enfants qui ont un régime sans gluten depuis un temps suffisamment long et qui ont une muqueuse normale. Nos constatations contraires dans 4 cas (*cas nos 2, 8, 18* et *18 bis*), nous amènent à nous demander si une « entorse » brève au régime n'est pas suffisante pour faire réapparaître les anticorps sans se traduire par une altération visible de la muqueuse. Encore qu'il soit difficile de conclure dans la mesure où l'examen histologique et l'examen immunologique n'ont pas été simultanément effectués.

D'autre part, nous avons étudié 6 enfants revus lors d'une période de réintroduction du gluten dans leur alimentation, faisant suite à une longue période de régime. Ces 6 enfants n'avaient aucun trouble clinique. Chez 3 d'entre eux qui avaient un taux positif d'anticorps (*cas n° 12, 13* et *14*), le régime était abandonné depuis longtemps et la muqueuse était plate, c'est-à-dire qu'on observait à son niveau une atrophie subtotale. Le quatrième résultat positif (*cas n° 16*) con-

cerne un enfant qui recevait du gluten depuis un an, mais nous n'avons pas pu contrôler l'état de la muqueuse. Les deux résultats négatifs (*cas n*^{os} *11* et *15*) ne se différencient pas de façon nette du précédent, mais nous ne disposons pas non plus de contrôle ni biologique, ni anatomique (cf. *Tableau XXVI* et *Tableau* AIII en appendice).

3) Résultats négatifs

Il reste que, dans un certain nombre de cas, les réactions ont été négatives, soit au premier examen (3/7 cas), soit lors de la rechute (2/6 cas). Précisons qu'aucun de ces derniers n'avait pu être examiné lors de la première poussée.

Il est important de proposer une explication satisfaisante de ces résultats négatifs. En effet, une double question se pose :

— ou bien il est effectivement des cas dans lesquels les anticorps n'apparaissent pas et leur relative fréquence serait un argument de poids pour penser que la réaction immunologique est un phénomène secondaire et dans une certaine mesure contingent ;

— ou bien ces anticorps existent dans tous les cas, mais nous ne pouvons pas toujours les déceler avec les moyens dont nous disposons.

Pour tenter de répondre à cela, il convient d'examiner :

1° Si ces cas négatifs ont quelques particularités cliniques.

2° Si en cours d'évolution la recherche des anticorps est constamment négative.

3° Quels sont les phénomènes immunologiques qui peuvent donner des réactions faussement négatives.

1) Les enfants *Mor...* (*cas n° 30*), *Lar...* (*cas n° 34*) et *Ben...* (*cas n° 35*) dont le taux d'anticorps à la gliadine était bas au premier examen, avaient tous les trois un syndrome de malabsorption intestinale avec stéatorrhée, coefficient d'absorption des graisses très abaissé (respectivement 63, 73 et 83 %), transit radiologique du grêle anormal et, à l'examen histologique de la muqueuse intestinale, une atrophie subtotale. Mais dans les 3 cas, il ne s'agit pas de la maladie cœliaque commune des nourrissons, *Lar...* et *Ben...* ont tous les deux sept ans, et *Mor...* a dix-sept ans. Nous ne savons pas si cette particularité peut avoir une signification ; précisons que parmi les malades qui ont un taux élevé d'anticorps, certains ont à peu près le même âge (*M.... Fou..., cas n° 33 :* taux à 1/2.048^{e}, sept ans et demi ; *P... Mes..., cas n° 12 :* taux à 1/512^{e}, six ans) (cf. *Tableaux* AI, AII et AIII et B en appendice).

2) Dans 2 observations, nous avons vu le taux des anticorps s'élever dans les semaines qui ont suivi l'institution du régime sans gluten (quoique restant à des taux modérés).

	Avec gluten	Suppression du gluten		
		2 semaines	6 semaines	3 mois
MOR... E (N° 30)	1/4	1/16	1/128 (0)	
LAR... S (N° 34)	1/8	1/64	1/16	1/16

Ces constatations ont besoin d'être confirmées par l'étude d'autres cas.

3) Elles pourraient suggérer que la négativité du premier examen tient à une trop grande consommation des anticorps qui sont « épuisés » *in vivo* par le gluten apporté par l'alimentation. Dans ces conditions, la suppression du gluten démasque ces anticorps [21].

4) Existe-t-il des anticorps au lait dans la maladie cœliaque ?

Nous avons systématiquement recherché les anticorps aux protéines du lait : fraction soluble et β-lactoglobuline chez les 6 enfants atteints de maladie cœliaque suivis au cours de leur première hospitalisation.

La seule constatation particulière est une baisse des anticorps à la fraction soluble et des anticorps à la β-lactoglobuline dans les 3 cas positifs observés (*cas n^{os} 28, 33* et *34*) au bout d'environ trois mois de régime sans gluten (*Tableau XXXIII*).

5) Le role pathogène des anticorps a la gliadine a été évoqué déja depuis plusieurs années

Deux théories s'opposent à ce sujet (Heiner et coll. [24], Berger et coll. [3], Taylor et coll. [39], Alarcon-Senovia et coll. [1] :

— ou bien les anticorps ne sont que le reflet du passage de la substance alimentaire allergénique à travers une muqueuse intestinale altérée, l'altération de la muqueuse étant d'une autre nature qu'immunologique, action toxique directe du gluten, par exemple... ;

— ou bien les anticorps jouent un grand rôle, la réaction allergique sous forme du conflit antigène-anticorps suffisant à expliquer elle-même l'altération de la muqueuse. Ce conflit se fait peut-être directement dans les cellules de la muqueuse intestinale. En s'aidant de réactions d'immunofluorescence, c'est-à-dire en utilisant des sérums antiglobulines humaines marqués par la fluorescéine, plusieurs auteurs ont essayé de mettre en évidence le conflit antigène-anticorps dans la cellule elle-même. Jusqu'ici, les résultats sont peu probants (Heiner [24]).

Une étude comme la nôtre ne permet pas de trancher ce problème. On peut cependant faire quelques remarques :

1° Le passage accru des protéines alimentaires à travers la muqueuse altérée joue peut-être un rôle dans l'entretien d'un taux élevé d'anticorps puisque, sous l'effet du régime sans gluten, non seulement les anticorps à la gliadine diminuent, mais aussi les anticorps aux protéines du lait lorsqu'ils existent.

2° Mais pourquoi, dans ce cas, n'y a-t-il d'anticorps à la gliadine que dans la maladie cœliaque et pas dans les autres syndromes gastro-intestinaux qui s'accompagnent d'une altération de la muqueuse ?

Au fond, une telle question se pose devant toute constatation d'anticorps spécifique d'une maladie, surtout lorsqu'il s'agit d'une intolérance à une substance définie.

B) Les anticorps dans les intolérances au lait de vache

1) Rappel clinique

L'intolérance spécifique au lait de vache ou plus exactement à une ou plusieurs de ses protéines, est un diagnostic qui est assez souvent évoqué en clinique, mais qui repose exceptionnellement sur une démonstration précise. Cette intolérance se manifeste par deux sortes de troubles, les uns immédiats, les autres retardés. C'est donc soit sur les accidents évoquant un choc anaphylactique, soit sur la constatation d'une diarrhée chronique avec arrêt de la croissance que le diagnostic est évoqué. Tous ces accidents disparaissent si on supprime le lait de vache de l'alimentation. Ils réapparaissent quand on le réintroduit et cette épreuve est nécessaire au diagnostic, encore que de nombreux facteurs peuvent intervenir qui en rendent l'interprétation délicate. Nous ne pouvons développer ce problème qui est en cours d'études à l'Unité de Recherches de la Clinique de Génétique Médicale.

2) Résultats

Quoi qu'il en soit, nous avons étudié 6 malades chez qui le diagnostic d'intolérance probable aux protéines du lait de vache avait été posé sur les arguments que nous venons de rappeler. Chez ces enfants, nous avons constamment trouvé :

a) Des anticorps à la fraction soluble des protéines du lait de vache à un taux supérieur à 1/512e, donc nettement plus élevé que chez l'ensemble des témoins.

b) Dans 3 cas sur 6, des anticorps à la caséine, constatation intéressante par rapport aux témoins, mais discutable, car il est difficile d'obtenir de la caséine pure et nous ne sommes pas sûrs que celle que nous avons utilisée ne contenait pas un peu de β-lactoglobuline ou d'α-lactalbumine.

c) Des anticorps à la β-lactoglobuline très élevés dans 4 cas (supérieurs ou égaux à 1/512e) et moyennement dans les deux autres.

d) Chez aucun de ces malades nous n'avons trouvé d'anticorps à la gliadine.

La suppression du lait de vache sous une forme quelconque : lait pasteurisé, lait en poudre, lait bouilli ou lait évaporé, n'entraîne pas de grandes modifications du taux des anticorps circulants pendant les premières semaines. En général, sous l'effet du régime, l'amélioration de l'état clinique de l'enfant est rapide.

Environ six semaines après le début du régime, on observe une baisse des anticorps (cf. *Tableau XXXVIII* et *courbes*).

Les dosages d'anticorps ont été faits à intervalles réguliers après réintroduction du lait dans le régime de l'enfant. Dans tous les cas, nous avons assisté à une augmentation progressive du taux des anticorps pour atteindre les taux les plus élevés environ deux à trois mois après (*cas. nos 1, 4, 3*) (cf. *Tableau XXXIX*).

De tout ceci, on peut conclure que si la présence d'anticorps à la fraction soluble n'apporte pas un argument pour le diagnostic, leur absence a une valeur d'élimination, et surtout que la présence d'anticorps à la β-lactoglobuline a une réelle valeur en faveur du diagnostic d'intolérance au lait ; ils sont exceptionnels chez les témoins et ne s'observent qu'à un âge très précis, entre six et douze mois ; leur absence permet de mettre en doute le diagnostic si le lait n'a pas encore été supprimé du régime ou s'il ne l'a été que depuis moins d'un mois.

La constance de ces résultats positifs permet de poser ici le problème, beaucoup plus que pour la maladie cœliaque, de l'importance pathogénique des anticorps.

3) Intolérance a une ou plusieurs protéines ?

Nous devons aussi nous demander si l'intolérance est spécifique d'une seule protéine du lait, la β-lactoglobuline, ou si au contraire elle s'étend à d'autres protéines. Il n'existe dans la littérature aucune étude immunologique qui permette de répondre à cette question. Dans le cas de Davidson [11], les réactions cutanées étaient davantage positives avec l'α-lactalbumine, cependant seule la β-lactoglobuline produisait des accidents. Nous ne pouvons apporter de document certain, puisque nous n'avons pas pu utiliser l'α-lactalbumine pour l'étude immunologique. Cependant les études faites dans le *cas n° 1* suggèrent très nettement qu'il existait une intolérance à plusieurs antigènes, outre la β-lactoglobuline, l'α-lactalbumine, les protéines du soja et du riz. Toutefois, si nous n'avons pas pu rechercher les anticorps à des substances que l'enfant ne tolérait pas, du moins nous avons constaté qu'il n'avait pas d'anticorps à la gliadine et vérifié qu'il tolérait bien la farine de blé. Les mêmes constatations ont été faites dans les cinq autres cas.

III. — DISCUSSION GENERALE

Nous avons discuté parallèlement les résultats obtenus dans la maladie cœliaque et dans l'intolérance au lait et vu qu'ils étaient dans l'ensemble concordants.

En réalité, la légitimité de cette assimilation demeure discutable. En particulier, nous ne pouvons pas affirmer que les lésions anatomiques sont identiques dans les deux maladies et, sur le plan immunologique, certaines divergences demeurent :

— il n'a jamais été constaté d'anticorps à la gliadine dans l'intolérance au lait, alors qu'on observe parfois des anticorps à la β-lactoglobuline dans la maladie cœliaque ;

— et surtout, les anticorps aux protéines du lait : fraction soluble et β-lactoglobuline sont élevés de façon constante dans l'intolérance au lait.

On serait tenté, dans ces conditions, de faire jouer un rôle pathogène important aux anticorps qui seraient responsables, d'une part des accidents aigus qui évoquent bien des accidents par sensibilisation et, d'autre part, des lésions anatomiques secondairement responsables du syndrome de malabsorption. Mais il existe peut-être deux types différents d'anticorps.

Ceci nous conduit à évoquer le problème de la nature des anticorps.

Il a été prouvé que les anticorps peuvent être différents selon l'antigène qui les provoque, différents dans leur nature biologique, et on sait que l'activité des anticorps est liée à deux ou trois protéines du sérum : les γ S 7, les β_2M (S 19) et les β_2A-globulines, différents dans leur développement au cours des phénomènes d'immunisation d'un organisme ; par exemple, chez les animaux, ce sont les S 19 qui se développent les premiers, puis si l'immunisation est poursuivie, ils sont remplacés par les S 7 γ-globulines.

Dans d'autres espèces, les deux types peuvent se développer parallèlement. De récentes études ont montré que, chez l'homme, les S 19 devaient être formés les premiers. Il est possible de les différencier en étudiant leurs propriétés antigéniques et leur pouvoir sensibilisant chez l'animal (KABAT [27]).

Il est probable qu'existent, dans notre étude, différentes sortes d'anticorps dont la producton est déclenchée de façon très inégale selon les antigènes :

— D'une part, les anticorps à la fraction soluble des protéines du lait : celles-ci ont un fort pouvoir antigénique qui est lié à la présence de l'une ou l'autre des protéines qui les constituent ; elles entraînent l'apparition d'anticorps de type protecteur non sensibilisant, comparables par exemple aux anticorps obtenus par vaccination chez l'homme.

La plupart des sujets en sont naturellement porteurs lorsque l'apport alimentaire est important avec passage relativement élevé à travers la muqueuse intestinale.

— D'autre part, les anticorps à la gliadine et les anticorps à la β-lactoglobuline par exemple (mais il peut s'agir tout aussi bien d'anticorps étendus à d'autres fractions du lait) : il s'agirait ici d'anticorps de type *sensibilisant* dont la présence traduit un état d'allergie clinique ou parfois infra-clinique.

Nous pensons, dans l'ensemble, que la confirmation immunologique, par la mise en évidence d'anticorps dans le sang circulant vis-à-vis des protéines alimentaires nocives des maladies par intolérance, a un très grand intérêt.

Notre étude ne fait intervenir qu'une seule méthode de recherche des anticorps, probablement une des plus sensibles certes, et il serait très utile de la compléter par des tests mettant en évidence une sensibilisation tissulaire comme les tests cutanés et, surtout, si cela s'avère possible, par une étude immunologique directe de la muqueuse intestinale.

Nous arrivons à cette question que l'on peut poser en conclusion : certains sujets n'ont-ils pas, dans leur équipement génétique, la faculté de développer préférentiellement des anticorps de type sensibilisant vis-à-vis d'allergènes définis ? Parmi la multitude de ceux-ci, nous intéressent la gliadine et la β-lactoglobuline, ou peut-être une autre protéine du lait encore plus active au point de vue antigénique :

— en grandissant, quelques sujets resteront porteurs d'anticorps mais ne trouveront, heureusement, jamais les conditions réunies pour développer la maladie ;

— d'autres synthétiseront, dès leur premier contact avec l'allergène, des anticorps en abondance et, à l'occasion d'une infection, d'une intoxication ou d'une irritation quelconque, ces anticorps viendront se fixer sur certains tissus riches en antigène, entraînant leur altération.

Cet épisode peut être précoce comme dans les maladies cœliaques de l'enfant, ne s'observer qu'à l'adolescence ou seulement à l'âge adulte, réalisant des syndromes de malabsorption voisins de la maladie cœliaque dont la physionomie cependant reste propre à l'enfance.

Le rôle des affections intestinales, les infections par exemple, survenues dans la première enfance, souvent invoquées à l'origine des intolérances alimentaires, ne serait pas de créer la sensibilisation de l'organisme par un passage accru de protéines à travers la muqueuse intestinale, passage qui est quasi physiologique, mais il consisterait à fixer sur la muqueuse intestinale l'action des anticorps qui, de toutes façons, se seraient développés.

TABLEAU A I

Premier examen. Etudes biologiques, radiologiques, histologiques et immunologiques chez les enfants atteints de maladie cœliaque

		Sexe	Age (ans/mois)	Hyperglycémies		Epreuve au xylose		Coefficient d'absorption des graisses (%)	Transit du grêle	Biopsie intestinale	Anticorps à la Gliadine
				Glucose (Δ/t)	Fructose (Δ/t)	5 g	25 g				
1	CAS. Patrick	M	0/8 ½	22/180				79	anormal		
2	GAR. Etienne	M	2/3	14/120					anormal		
3	HAU. Pascal	M	0/4	14/120				66	anormal		
4	BAL. Laurence	F	1/0	4/30		10	9	73	anormal	atrophie subtotale	
5	GUI. Natacha	F	1/3	12/30					anormal		
6	BEL.Catherine	F	1/4	10/120		17	16		subnormal		
7	COT. Martial	M	0/7 ½	22/120		31	29	78	subnormal	atrophie partielle	
8	COL.Christian	M	1/5 ½	2/60		10			subnormal	atrophie subtotale	
9	PAR.Isabelle	F	1/5	16/150				66			
10	GUE. Michel	M	1/10	22/90		27	23	68	anormal	atrophie subtotale	
11	DEB. Annick	F	0/9	20/60							
12	MES. Patrick	M	1/6	34/150				72	anormal		
13	SAL.Alexandre	M	1/4 ½	5/60		7		61	anormal	atrophie subtotale	
14	LOY. Annick	F	0/9	17/90					anormal		
15	GER. Cécile	F	0/10	33/60		18	7	70	subnormal	atrophie subtotale	
16	ZYL.Catherine	F	0/7 ½	16/60					anormal		
17	MER. Léa	F	3/5	20/60					anormal		
18	MAN. Claire	F	0/9 ½	14/60		17	14	76	subnormal		
18 bis	MAN.Dominique	M	4/2								
19	SEG. Alain	M	0/7	28/30				81	anormal		
20	LON. Muriel	F	0/10	9/60		21	7	70	subnormal	atrophie subtotale	
21	BRA.Christine	F	0/7 ½	23/90		30	22	82			
22	CHA. Jean-Marie	M	1/11	19/90	15/90	26	19	77	anormal	atrophie subtotale	
23	CAM. Anita	F	1/4	11/60	11/30	25	12	75	subnormal	atrophie subtotale	
24	TKA. Jean-Louis	M	7/3	21/120	20/90	10	14	87	anormal	atrophie partielle	
25	AND. Michel	M	9/8 ½	20/30				85	subnormal		
26	GAY. Laurence	F	2/4 ½	8/120		36	18	90	subnormal	atrophie partielle	
27	DAN. Jacques	M	7/6				9-20		subnormal	atrophie subtotale	
28	DEP.Catherine	F	0/7	4/90	6/60	33	21	86	anormal		1/256
29	MAF.Véronique	F	2/0	25/60	6/120	39	26	88	anormal	atrophie subtotale	1/256 (1/8)
30	MOR. Edouard	M	17/4	46/15	22/60	14	5	63	anormal	atrophie subtotale	1/4 (0)
31	ZAL. Fabien	M	1/11 ½	30/15		50		86	subnormal	atrophie partielle	1/2048 (0)
32	CHA. Nathalie	F	0/10 ½	30/60		12			anormal		
33	FOU. Martine	F	7/6 ½	26/30		35	31	88	anormal	atrophie subtotale	1/2048 (0)
34	LAR. Sylviane	F	7/1	4/30	0	16	11	73	anormal	atrophie subtotale	1/8
35	BEN. Camel	M	6/9 ½	18/90		14		83	subnormal	atrophie subtotale	1/2

TABLEAU A II

Régime sans gluten

	Age (ans/mois)	Durée régime sans gluten (ans/mois)	Hyperglycémies		Epreuve au xylose		Coefficient d'absorption des graisses (%)	Transit du grêle	Biopsie intestinale	Anticorps à la Gliadine
			Glucose (△/t)	Fructose (△/t)	5 g	25 g				
1	2/1	1/1 *			46			normal	normale	
2	7/2	2/1	87/30	31/30	48	35	96		normale	1/128
3	2/2	1/9	52/90	28/30	27	32	98	normal	subnormale	
4	2/2	0/6 *	49/60	25/60	36	40	96	subnormal	atrophie partielle	1/8 (0)
5	5/8	2/0 *	35/30		49	40	92		normale	
6	3/4	1/0 *	23/30	13/60	39	27	95		atrophie partielle	1/256
7	2/7	1/0 *	41/60		29	42	95		subnormale	
8	3/10	2/0 *	40/30	25/30	50	36	95	normal	normale	1/256
9	3/9	2/4	64/15	35/60	42		97	subnormal	normale	1/8 (0)
10	4/0	1/0 *	27/30		41	21	88		atrophie partielle	
11	3/6 ½	1/0 *	46/30							
12	1/9 ½	0/3	54/60				93	subnormal		
13	1/9	0/4	55/30		50	31	96		atrophie partielle	
14	6/3	0/6 * mal suivi	42/30	36/30	14	25	90	subnormal	atrophie subtotale	
15	2/1	1/2	73/30		44				subnormale	
16	2/2	0/9	32/30		40	16			atrophie partielle	
17	7/10	4/2	45/60					subnormal		
18	3/2	2/2	90/30		44	46	95		normale	1/64 (1/16)
18 bis	5/2	1/6	36/30		(15 (20	37	90	normal	normale	1/128 (1/8)
19	3/8	3/0	56/60		30	41	96		normale	1/8
20	0/10	1/9	17/15	39/30	44	35	94			1/16
21	2/0	0/3 *	66/30	27/30	40	63	91		atrophie partielle	1/8
22	2/11 ½	1/0	78/60	20/90	35	32	94		subnormale	1/256
23	2/4 ½	1/0	62/15	81/15	41	50	97	subnormal	subnormale	0 (0)
24	9/5	2/1	52/30		29	32	96		normale	1/16 (1/16)
25	10/10	1/0	54/60		42	29	96	normal	subnormale	1/32 (0)
26	3/5	1/0	53/30		36		95		subnormale	1/256 (1/8)
27										
28										1/256 (0)
29										
30	17/10	0/3	19/60	26/60	50	31	96			1/128 (0)
31	2/4	0/3	18/30		26				atrophie partielle	1/256 (1/4)
32	1/1	0/1	64/30		48		92		atrophie subtotale	1/8 (0)
33	7/10	0/3	46/30		42		90			1/512 (0)
34	7/6	0/4 ½	51/60		47		90			1/16
35	7/2	0/2	47/60		28		96			0

TABLEAU A III

Rechute

	Age (ans/mois)	Durée du régime		Hyperglycémies		Epreuve au xylose		Coefficient d'absorption des graisses (%)	Transit du grêle	Biopsie intestinale	Anticorps à la Gliadine
		sans gluten	avec gluten	Glucose (Δ /t)	Fructose (Δ /t)	5 g	25 g				
1											
2	5/2	non suivi		34/90		31	25	90	subnormal	subtotale	
3	2/10	1/9	0/8	49/60		36	42	94		atrophie partielle	
4	1/8	0/2 ½	0/3 ½	3/60		22	8	76		atrophie subtotale	
5	3/8	1/10	0/7	34/60			12	87	subnormal	atrophie subtotale	
6	2/4	0/9	3/0	50/30	32/90	39		88	subnormal	atrophie subtotale	
7	1/7	0/6 ½	0/4	70/30	9/120	47	26	88	subnormal		
8	1/10 ½	0/3 ½	0/1	38/30		7	14	37	anormal	atrophie subtotale	
9	2/8	2/4	0/11	30/30	13/60	30		88		atrophie subtotale	
10	3/0	0,9*	0/4	17/60	16/90	38		87	anormal	atrophie subtotale	
11	2/5 ½	0/7 ½	1/1	24/90				56			1/16
12	5/8	?	2/5	33/90		19	21	90		atrophie subtotale	1/512 (1/4)
13	4/0	1/10*	0/4	21/30	27/60	40	56	96		atrophie subtotale	1/64 (0)
14	5/8	2/10 ½	2/0	58/60		27	19	90	anormal	atrophie subtotale	1/1024 (0)
15											1/16 (0)
16	1/3 ½	0/6 ½	0/2	14/60				72			1/256
17											
18											
18 bis											
19											
20											
21	1/9	0/6	0/5	58/30	24/30	16	12	89		atrophie subtotale	
22											
23											
24	9/9	2/1	0/4	39/30		17		97			
25	12/0	1/0	1/0	3/30	17/30	25	25	95		atrophie partielle	
26											
27											
28											
29											
30											
31											
32											
33											
34											
35											

TABLEAU B

Intolérances au lait de vache

	Nom	Sexe	Age (ans/mois)	Durée du régime sans lait de vache	Hyperglycémies		Epreuves au xylose		Coefficient d'absorption des graisses (%)	Transit du grêle	Biopsie intestinale	ANTICORPS				
					Glucose (△ /t)	Fructose (△ /t)	5 g	25 g				Gliad.	Lait	F.sol.	Caséine	Lacto
1	SOU... Patricia	F	0/8		24/30		13	7	82	anormal						
			1/0	0/4	(27/15 (27/30		42	5 diarrhée	96	sub-normal	atrophie partielle					
			1/4 ½	0/8 ½	109/30		35			sub-normal						
			2/7	1/11	45/60		44	22	97		normale	1/16	1/16 (0)			1/128 (0)
2	SAA... Tania	F	0/8		71/60		9	10	83	sub-normal						
			1/2	0/6	80/15	48/30	17	20	96							
			1/6 (3 m. avec)		86/30		34		91		sub-normale	1/8	1/8			1/1024 (1/4)
3	LEF... Catherine	F	0/2 ½	0/1					91							
			0/6 ½	0/5	36/30		26		93			1/32	1/2			1/128
			0/9 ½ (2 m. avec)		30/30				89		atrophie partielle		1/8	1/1024		1/1024 (1/8)
4	HYP... Thierry	M	0/7	0/3	23/60	20/30	28	10	95			0	0			1/128 (0)
			1/0 (2 ½ m. avec)		21/60	37/90	25	32	95			1/4		1/512	1/64	1/128 (1/4)
			1/1 ½ (4 m. avec)		31/15		18		92			1/4		1/2048 (0)	1/8	1/512 (0)
			1/5	0/3 ½ (depuis la rechute)	(140/15 (100/15		35		89					1/1024 (0)	1/16	1/8 (0)
5	TIS... Philippe	M	0/3		(28/30 (30/30		22		79	anormal		0		1/512	1/8	1/256 (0)
6	BAU... Elisabeth	F	0/3		34/30					anormal		0		1/2048 (0)	1/8	1/64 (0)
			0/5	0/2	23/90		58		98			0		1/16 (0)	1/4	1/4 (0)

CONCLUSIONS

Nous avons recherché les anticorps sériques par la réaction d'hémagglutination passive *in vitro* à la benzidine, contre la gliadine, la caséine, les protéines solubles du lait et la β-lactoglobuline, chez 29 enfants souffrant de maladie cœliaque, 6 atteints d'intolérance digestive au lait de vache et chez 68 témoins âgés de quinze jours à treize ans.

1) On ne retrouve qu'exceptionnellement des anticorps à la gliadine chez des témoins, 5 fois sur 66.

Ils sont fréquemment, au contraire, observés chez les enfants atteints de maladie cœliaque (15 fois sur 29). La proportion des cas positifs et le taux de l'agglutination sont plus forts lorsque l'enfant reçoit un régime normal que lorsque l'enfant reçoit un régime sans gluten. Ces chiffres diminuent progressivement si le régime est maintenu.

La réaction nous paraît donc très utile pour le diagnostic. Toutefois, un résultat négatif ne permet pas d'écarter définitivement celui-ci.

2) On retrouve fréquemment des anticorps contre les protéines solubles du lait aussi bien au cours de la maladie cœliaque et chez les témoins normaux que chez les enfants atteints d'intolérance au lait. Il semble toutefois que, dans ce dernier groupe, le taux d'anticorps soit beaucoup plus élevé de façon constante.

3) On ne constate qu'exceptionnellement des anticorps à la caséine chez les témoins et chez les enfants atteints de maladie cœliaque. Nous les avons trouvé élevés chez 3 des 6 enfants intolérants au lait.

4) Un titre élevé d'anticorps à la β-lactoglobuline est constamment observé dans ce dernier groupe, tandis que la présence de ces anticorps est exceptionnelle dans les deux autres catégories de sujets. Cette différence montre la valeur de cette réaction pour le diagnostic de l'intolérance au lait.

5) Nous n'avons pas pu obtenir d'antigène suffisamment pur pour étudier les réactions immunologiques aux autres fractions du lait. Dans ces conditions, nous ne pouvons dire si l'intolérance est limitée à la β-lactoglobuline ou si elle est étendue à d'autres fractions.

6) Nos constatations soulèvent différents problèmes :
   — celui de la nature des anticorps sériques ;
   — et surtout celui de leur signification et de leur rôle dans la pathogénie de la maladie.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
LAMY

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

REFERENCES

1. Alarcon-Senovia (D.), Herskovic (T.), Wakim (K.G.), Green (P.A.) et Scudamore (H.H.). — Presence of circulating antibodies to gluten and milk fractions in patients with tropical sprue. (*Amer. J. Med.*, 1964, *36*, 485.)

2. Benacerraf (B.), Biozzi (G.) et Halpern (B.N.). — The effect of histamine upon the local fixation of antibodies in the skin of the Guinea Pig. (*J. Immunol.*, 1954, *73*, 318.)

3. Berger (E.) et Freudenberg (E.). — Ist di Cöliakie durch Allergie gegen Gliadin bedingt ? (*Schweiz. Med. Wschr.*, 1963, *95*, 549.)

4. Bernard (J.G.). — L'allergie alimentaire et digestive. A propos du I^er^ Congrès International de Vichy, 28-30 juin 1963. (*Gaz. Hôp.*, Paris, 1963, *34*, 1517.)

5. Bower (B.D.), Stanley Rose (D.G.), Wolff (O.H.). — Two cases of cow's milk allergy. (*Brit. Med. J.*, 1958, *ii*, 195.)

6. Boyden (S.V.). — The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. (*Journal of Experimental Medicine*, 1951, *93*, 107.)

7. Burgin-Wolff (A.) et Berger (E.). — Die Bildung von Antikörpen gegen verschiedene Kuhmilch-Proteine bei Neugeborenen, Kindern, Erwachsenen und Graviden. (*Experientia*, Basel, 1963, *19*, 22.)

8. Burgin-Wolff (A.) et Just (M.). — Die Bedeutung des Nachweiss präzipitierender Antikörper gegen einzelne Proteine der Kuhmilch. (*Schweiz. Med. Wschr.*, 1963, *93*, 760.)

9. Cole (W.Q.) et Dees (S.C.). — Allergenic properties of milk and milk proteins. A study of anaphylaxis in guinea pigs. (*J. Pediat.*, 1963, *63*, 256.)

10. Collins-Williams (C.). — Cows milk allergy in infants and children. (*Int. Arch. Allergy*, 1962, *20*, 38.)

11. Davidson (M.), Burnstine (R.C.), Kugler (M.M.) et Bauer (C.H.). — Malabsorption defect induced by ingestion of beta lactoglobulin. (*J. Pediat.*, 1965, *66*, 545.)

12. Fontaine (G.), Delecour (M.), Walbaum (R.), Lelong (M.), Farriaux (J.P.), Cuvelier (R.) et Dehaene (P.). — Les anticorps anti-lait de vache. Problèmes posés par leur détection et leur interprétation. (*Pédiatrie,* 1964, *19,* 807.)

13. Frézal (J.) et Rey (J.). — L'intolérance à la β-lactoglobuline. (*Journées Pédiatriques,* 1964, 91-98.)

14. Garnier (J.). — Mise au point sur la séparation, l'identification et le dosage des protéines du lait de vache à l'exclusion des caséines. (*Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.,* 1964, *4,* 163.)

15. Goldman (A.S.), Anderson (D.W. Jr), Sellers (W.A.), Saperstein (S.), Kniker (W.T.), Halpern (S.R.) et coll. — Milk allergy. I. Oral challenge with milk and isolated milk proteins in allergic children. (*Pediatrics,* 1963, *32,* 425.)

16. Gunther (M.), Aschaffenburg (R.), Matthews (R.H.), Parish (W.E.) et Coombs (R.R.A.). — The level of antibodies to the proteins of cow's milk in the serum of normal human infants. (*J. Immunol.,* 1960, *3,* 296.)

17. Gunther (M.), Cheek (E.), Matthews (R.H.) et Coombs (R.R.A.). — Immune response in infants to cow's milk proteins taken by mouth. (*Int. Arch. Allergy,* 1962, *21,* 257.)

18. Halpern (B.N.), Lagrue (G.), Lagrue (R.) et Branellec (A.). — Recherches sur la perméabilité du tractus digestif et sur le processus de sensibilisation à des protéines étrangères par voie digestive chez l'animal et chez l'homme. (*Revue Française d'Allergie,* 1961, *1,* 1.)

19. Halpern (B.N.), Lagrue (G.) et Lagrue (Mme R.). — Le rôle des facteurs enzymatiques digestifs dans le déterminisme des allergies alimentaires. (*Méd. et Hyg.,* Genève, 1963, *21,* 776.)

20. Halpern (B.N.), Jacob (M.), Binaghi (R.) et Parlebas (J.). — Mise en évidence et dosage des anticorps allergiques par l'hémagglutination *in vitro* dans les syndromes allergiques humains et expérimentaux. (*Revue Française d'Allergie,* 1961, *1,* 201.)

21. Halpern (B.N.) et Ky (N.T.). — Etude clinique et immunologique d'un cas de maladie cœliaque par sensibilisation au gluten. (*Méd. et Hyg.,* Genève, 1964, *22,* 55.)

22. Heiner (D.C.), Lahey (M.E.), Wilson (J.F.), Gerrard (J.W.), Swachman (H.) et Khaw (K.J.). — Precipitines to antigens of wheat and cow's milk in coeliac disease. (*J. Pediat.,* 1962, *61,* 812.)

23. Heiner (D.C.), Sears (J.W.) et Kniker (W.T.). — Multiple precipitines to cow's milk in chronic respiratory disease. (*Amer. J. Dis. Child.,* 1962, *103,* 634.)

24. Heiner (D.C.). — Intestinal absorption of immunologically intact food proteins. (*J. Pediat.,* 1963, *63,* 744.)

25. Holland (N.H.), Hong (R.), Davis (N.C.), West (C.D.). — Significance of precipitating antibodies to milk proteins in the serum of infants and children. (*J. Pediat.*, 1962, *61*, 181.)

26. Johnstone (D.E.). — Study of the significance of food antigen precipitins in sera of food-sensitive and normal children. (*Annals of Allergy*, 1963, *21*, 206.)

27. Kabat (E.A.), Liacopoulos (P.), Liacopoulos-Briot (M.), Halpern (B.N.) et Relyved (E.H.). — Studies on the sensitizing properties of human antisera and purified antibodies. (*J. Immunol.*, 1963, *90*, 810.)

28. Lamy (M.), Frézal (J.) et Rey (J.). — Les stéatorrhées par troubles de l'absorption intestinale. In Physio-pathologie de digestion-absorption intestinale chez l'enfant. (*XIX*e *Congrès de l'Association des Pédiatres de Langue Française*, 1963, tome I.)

29. Lamy (M.), Frézal (J.) et Rey (J.). — Pathogénie de la maladie cœliaque. (*Méd. et Hyg.*, Genève, 1964, *22*, 57.)

30. Luz (A.Q.) et Todd (R.T.). — Antigenicity of heated milk proteins. (*Am. J. Dis. Child.*, 1964, *108*, 479.)

31. Mac Donald (W.C.), Dobbins (W.O.) et Rubin (C.E.). — Studies of the familial nature of coeliac sprue using biopsy of the small intestine. (*New Engl. J. Med.*, 1965, *272*, 448.)

32. Peterson (R.D.A.) et Good (R.A.). — Antibodies to cow's milk proteins. Their presence and significance. (*Pediatrics*, 1963, *31*, 209.)

33. Pokorna (M.), Sourek (J.) et Svejcar (J.). — Die Bedeutung der Präzipitine gegenuber Gliadin ins Serum von Kindern mit Cöliakie. (*Helv. Paediat. Acta*, 1963, *18*, 393.)

34. Ratner (B.), Dworetzky (M.), Satoko (O.) et Aschheim (L.). — Studies on the allergenicity of cow's milk III. Effect of heat treatment on the allergenicity of milk and protein fractions from milk as tested in guinea pigs by sensitization and challenge by the oral route. (*Pediatrics*, 1958, *22*, 653.)

35. Saperstein (S.) et Anderson (D.W.). — Antigenicity of milk proteins of prepared formulas measured by precipitin ring test and passive cutaneous anaphylaxis in the guinea pig. (*J. Pediat.*, 1962, *61*, 196.)

36. Saperstein (S.), Anderson (D.W.), Goldman (A.S.) et Kniker (W.T.). — Milk allergy III. Immunological studies with sera from allergic and normal children. (*Pediatrics*, 1963, *32*, 580.)

37. Sewell (P.), Cooke (W.T.), Cox (E.V.), Meynell (M.J.). — Milk intolerance in gastro-intestinal disorders. (*Lancet*, 1963, *ii*, 1132.)

38. Stanfield (J.P.). — A review of cow's milk allergy in infancy. (*Acta Paediat.*, 1959, *48*, 85.)

39. Taylor (K.B.), Truelove (S.C.) et Wright (R.). — Serologic reactions to gluten and cow's milk proteins in gastro-intestinal disease. (*Gastroenterology,* 1964, *46,* 99.)

40. Wright (R.), Taylor (K.B.), Truelove (S.C.) et Aschaffenburg (R.). — Circulating antibodies to cow's milk proteins and gluten in the newborn. (*Br. Med. J.,* 1962, 5303, *i,* 513.)

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 11

Chapitre I. — Les études sur les anticorps vis-à-vis des allergènes alimentaires 13

— *Passage des antigènes alimentaires à travers la muqueuse intestinale et formation des anticorps* 13

— *Les différentes méthodes d'étude des anticorps aux protéines alimentaires* 16

— *Les résultats* 18

Chapitre II. — Etude personnelle 32

— *Mise en évidence et dosage des anticorps circulants par la technique de l'hémagglutination passive à la benzidine* . .. 32

— *La technique de l'hémagglutination passive à la benzidine* .. 37

— *Discussion de la valeur de la technique* 41

Chapitre III. — Matériel clinique 43

— *Résultats chez les témoins* 47

— *Résultats des dosages pour les maladies cœliaques* 52

— *Intolérances au lait de vache* 57

— *Résultats des dosages effectués chez les enfants convalescents de gastro-entérite aiguë* 62

Chapitre IV. — Discussion 64

— *Les témoins* 64

— *Les malades* 68

— *Discussion générale* 74

Conclusions 81

Références 83

IMPRIMERIE R. FOULON & CIE, 29, RUE DEPARCIEUX, PARIS XIV^e^